

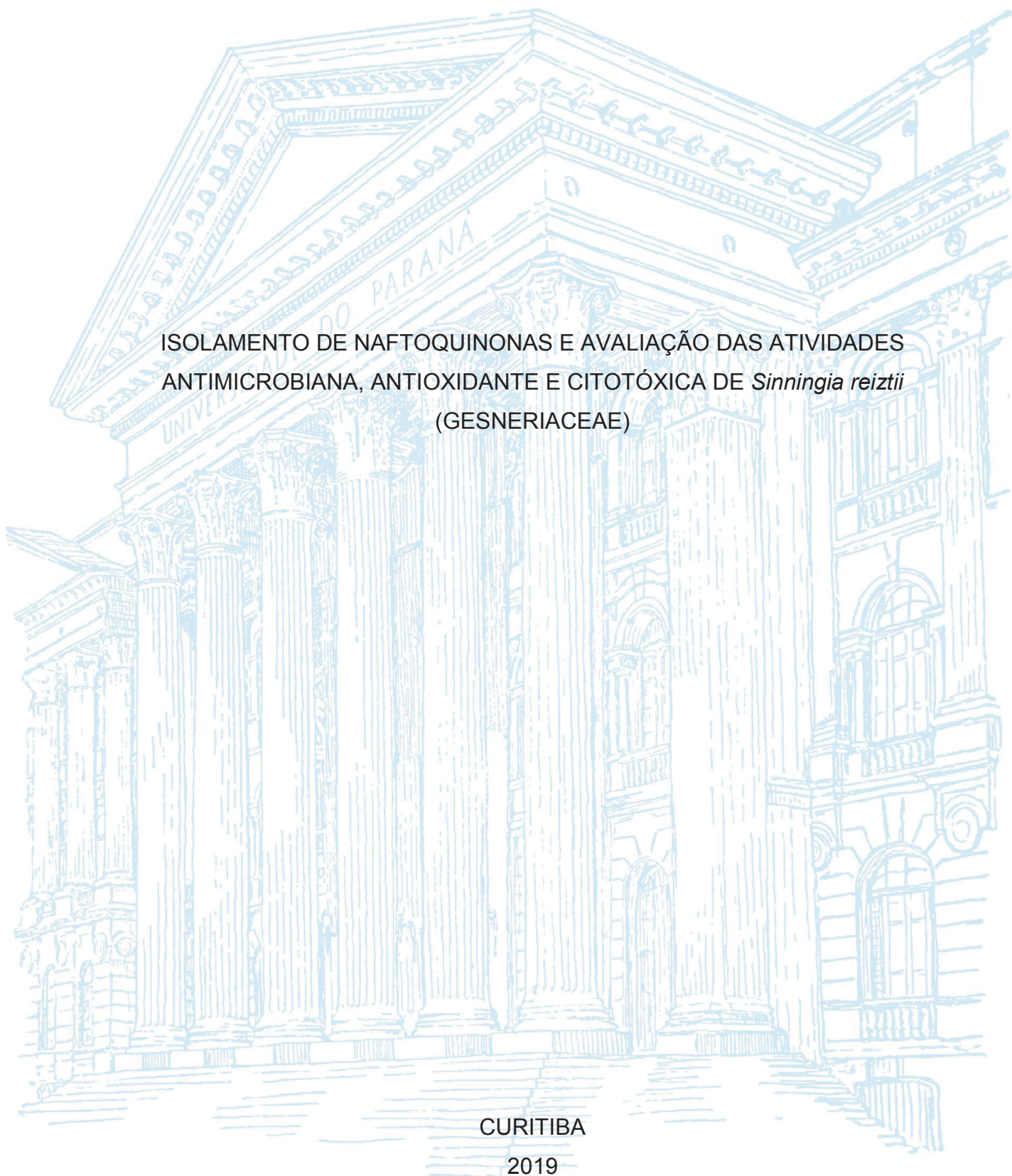
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ADSON SOARES DA SILVA

ISOLAMENTO DE NAFTOQUINONAS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES  
ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DE *Sinningia reitzii*  
(GESNERIACEAE)

CURITIBA

2019



ADSON SOARES DA SILVA

ISOLAMENTO DE NAFTOQUINONAS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES  
ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DE *Sinningia reitzii*  
(GESNERIACEAE)

Tese apresentada ao curso de pós-graduação em Química, Departamento de Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Élide Alves Stefanello.

CURITIBA

2019

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

---

- S586i Silva, Adson Soares da  
Isolamento de naftoquinonas e avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica de *sinningia reitzii* (gesneriaceae) [recurso eletrônico] / Adson Soares da Silva – Curitiba, 2019.
- Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química.  
Orientadora: Maria Élide Alves Stefanello
1. Gesneriaceae.(plantas) 2. *Sinningia reitzii*.(plantas). 3. Citoquímica. I. Universidade Federal do Paraná. II. Stefanello, Maria Élide Alves. III. Título.

CDD: 583.96

---

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **ADSON SOARES DA SILVA** intitulada: **Isolamento de naftoquinonas e avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica de *Sinningia reitzii* (Gesneriaceae)**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 05 de Abril de 2019.

MARIA ÉLIDA ALVES STEFANELLO  
Presidente da Banca Examinadora

FRANCISCO DE ASSIS MARQUES  
Avaliador Interno (UFPR)

MARCOS JOSÉ SALVADOR  
Avaliador Externo (UNICAMP)

GUILHERME LANZI SASSAKI  
Avaliador Externo (UFPR)

CLAUDINEY SOARES CORDEIRO  
Avaliador Interno (UFPR)

## *DEDICATÓRIA*

*Dedico esta tese à minha mãe Sueli, ao meu namorado Henrique Flôres e minha sobrinha Luna Luane e demais familiares e amigos, que me apoiaram ao longo dessa trajetória.*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora Professora Dra. Maria Élide Alves Stefanello, pela grande oportunidade que me deu e pelos grandes ensinamentos.

Ao professor Dr. Marcos José Salvador, do Instituto de Biologia da UNICAMP-SP, pelos ensaios biológicos.

Ao Professor Eduardo Lemos de Sá, do Departamento de Química, UFPR, pelos cálculos teóricos.

À Clarisse B. Poliquesi, do Museu Botânico Municipal de Curitiba, pela coleta e identificação da espécie deste trabalho.

Aos Professores do DQ-UFPR, Anderson Barison, Claudiney Soares Cordeiro, Daniel Rampom, e Francisco de Assis Marques, por participarem das bancas de qualificação e defesa.

À professora Jaísa Fernandes pela análise de Cristalografia de Raios X.

Aos Professores Guilherme Sassaki, por participar da banca e Marcelo Muller, pelas análises de Dicroísmo Circular, ambos do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Aos técnicos do DQ-UFPR, principalmente à Grazielli da Rocha, Tiago J. Santos, e ao hialotécnico Geraldo Batista de Paiva, por todo suporte dado.

Aos meus colegas e companheiros do Laboratório de Produtos Naturais e Ecologia Química (LAPNEQ), Ana Paula, Inaira Casapula, Magali Amorim, Maria Helena Verdan, Rebeca Camargo, Vanessa Winiewski, por todo apoio e companheirismo.

Aos meus grandes amigos, Josemir Sales, Josinete Paz, Livia Dutra, Maria de Fátima, Mirele Senna, Nathalya Lima, Patrícia Alexandre, Rodolfo Rodrigues, Sandra Estima e Vitor Berghauser os quais sempre estiveram ao meu lado nos momentos bons e também nos mais difíceis.

Ao centro de Ressonância Magnética Nuclear da UFPR, pelo auxílio e disponibilidade dos equipamentos.

Ao programa de pós-graduação em Química da UFPR, pela estrutura e oportunidade.

À universidade Federal do Paraná, pela estrutura.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

A todos que de forma direta ou indireta auxiliaram para realização deste trabalho.

Obrigado!

***“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”***

***(Martin Luther King)***



## RESUMO

Gesneriaceae Rich. & Juss. ex DC. (150 gen/3000 spp) é uma família pantropical, constituída de ervas, cipós ou arbustos. *Sinningia* Nees (70-80 spp) é neotropical, ocorrendo desde o México até a Argentina. *S. reitzii* (Hoehne) L.E. Skog é um subarbusto perene, rupícola, com caule de 20-120 cm, e numerosos tubérculos. É endêmica do Brasil, sendo encontrada na Mata Atlântica e na Floresta Ombrófila dos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Até o início deste trabalho não havia nenhum estudo químico ou biológico com essa espécie. O material vegetal seco (tubérculos) foi extraído com solventes de diferentes polaridades (hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol), os extratos foram fracionados através de técnicas cromatográficas. As substâncias isoladas foram identificadas empregando-se métodos espectrométricos e espectroscópicos, como espectroscopia no ultravioleta, no infravermelho, espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear. Os dados obtidos foram comparados com a literatura. Foram isoladas 13 naftoquinonas prenilhadas a partir dos extratos em hexano e diclorometano: 8-Hidroxi-dunniona (**SR1**), 5-Hidroxi-6,7-dimetoxi- $\alpha$ -dunniona (**SR2**), 7-Hidroxi- $\alpha$ -dunniona (**SR3**), 6,7-Dimetoxidunniona (**SR4**), 5-Hidroxi-6,7-dimetoxidunniona (**SR5**), 7-Hidroxi-6-metoxidunniona (**SR6**), 7-Hidroxi-dunniona (**SR7**), 8-Hidroxi-deiidrodunniona (**SR8**), 7-Hidroxi-deiidrodunniona (**SR9**), 6,8-Diidroxi-7-metoxi-2-O-metildunniol (**SR10**), 5-Hidroxi-6,7-dimetoxidunniol (**SR11**), 6-Hidroxi-7,8-dimetoxi-2-O-metildunniol (**SR12**) e 8-Hidroxi-7-metoxi-2-O-metilstretocarpona (**SR13**). Destas, **SR2**, **SR4**, **SR5**, **SR6**, **SR8**, **SR9**, **SR11**, **SR12** e **SR13** eram inéditas. A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada contra *Staphylococcus aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 30070, *C. dubliniensis* ATCC 778157 e *C. parapsilosis* ATCC 22019, pelo método de microdiluição. Todos os extratos foram considerados inativos (CIM > 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo método ORAC, e os resultados expressos como  $\mu\text{mols}$  de trolox equivalente por grama de extrato seco ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). Todos os extratos foram ativos ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  > 800). O extrato em EtOH foi o mais ativo (5.814,3  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ), seguido do extrato em AcOEt (3.103,7  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). A atividade citotóxica dos extratos foi avaliada contra as linhagens de células tumorais PC-3 (próstata) e SKMEL-103 (melanoma), além da linhagem 3T3 (fibroblastos, não tumoral). Foi utilizado o método MTT e doxorrubicina como controle positivo, sendo os resultados expressos como IC<sub>50</sub> em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A maior atividade foi observada nos extratos em hexano e diclorometano (IC<sub>50</sub> = 0,25-37,24  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). As substâncias **SR1**, **SR2**, **SR4** e **SR8** também foram avaliadas pelo mesmo método, e utilizando uma linhagem adicional (HeLa - colo do útero). Apenas **SR4** foi ativa, mostrando uma forte atividade citotóxica para as linhagens PC-3 e HeLa (IC<sub>50</sub> < 10  $\mu\text{mols mL}^{-1}$ ), sem afetar a viabilidade das células de fibroblastos (IC<sub>50</sub> = 157  $\mu\text{mols mL}^{-1}$ ).

Palavras-Chave: Gesneriaceae. *Sinningia reitzii*. Naftoquinonas. Atividade antimicrobiana. Atividade antioxidante. Atividade citotóxica.

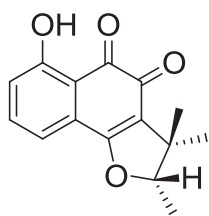


## ABSTRACT

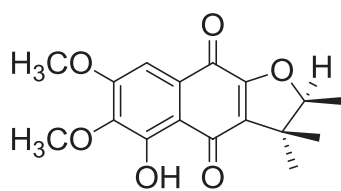
Gesneriaceae Rich. & Juss. ex DC. (150 gen / 3000 spp) is a pantropical family consisting of herbs, vines or shrubs. *Sinningia* Nees (70-80 spp) is neotropical, being found from Mexico to Argentina. *S. reitzii* (Hoehne) L.E. Skog is a perennial subshrub, rupicolous, with a stem of 20-120 cm, and numerous tubers. It is endemic in Brazil, growing in the Atlantic Forest and in the Ombrophilous Forest of the São Paulo, Paraná and Santa Catarina States. Until the beginning of this work there were no chemical or biological studies with this species. The dried plant material (tubers) was extracted with solvents of different polarities (hexane, dichloromethane, ethyl acetate and ethanol), the extracts were fractionated by chromatographic techniques. The isolated compounds were identified by spectrometric and spectroscopic methods, such ultraviolet spectroscopy, infrared spectroscopy, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. The data obtained were compared with the literature. The hexane and dichloromethane extracts yielded 13 prenylated naphthoquinones: 8-Hydroxydunnione (**SR1**), 5-Hydroxy-6,7-dimethoxy- $\alpha$ -dunnione (**SR2**), 7-Hydroxy- $\alpha$ -dunnione (**SR3**), 6,7-Dimethoxydunnione (**SR4**), 5-Hydroxy-6,7-dimethoxydunnione (**SR5**), 7-Hydroxy-6-methoxydunnione (**SR6**), 7-Hydroxydunnione (**SR7**), 8-Hydroxydehydrodunnione (**SR8**), 7-Hydroxydehydrodunnione (**SR9**), 6,8-Dihydroxy-7-methoxy-2-O-methyldunnione (**SR10**), 5-Hydroxy-6,7-dimethoxydunniol (**SR11**), 6-Hydroxy-7,8-dimethoxy-2-O-methyldunniol (**SR12**) and 8-Hydroxy-7-methoxy-2-O-methylstreptocarpone (**SR13**). Of these, (**SR2**, **SR4**, **SR5**, **SR6**, **SR8**, **SR9**, **SR11**, **SR12** and **SR13**) were reported for the first time. The antimicrobial activity of the extracts was evaluated against *Staphylococcus aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231, *C. glabrata* ATCC 30070, *C. dubliniensis* ATCC 778157 and *C. parapsilosis* ATCC 22019 by the microdilution method. All were considered inactive (MIC > 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the ORAC method, and the results expressed as  $\mu\text{mols}$  of trolox equivalents per gram of dry extract ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). All extracts were active ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  > 800). The extract in EtOH was the most active (5814.3  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ), followed by the extract in EtOAc (3103.7  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ). The cytotoxic activity of the extracts was evaluated against the PC-3 (prostate) and SKMEL-103 (melanoma) tumor cell lines, as well as the 3T3 (non-tumor fibroblast) lineage, using the MTT method. Doxorubicin was used as positive control, and the results were expressed as  $\text{IC}_{50}$  in  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The extracts in hexane and dichloromethane were the most active ( $\text{IC}_{50}$  = 0.25-37.24  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Compounds **SR1**, **SR2**, **SR4** and **SR8** were also evaluated by the same method, and using an additional lineage (HeLa - cervix). Only **SR4** was active, showing strong cytotoxic activity towards PC-3 and HeLa ( $\text{IC}_{50}$  < 10  $\mu\text{mols mL}^{-1}$ ), without affecting the viability of fibroblast cells ( $\text{IC}_{50}$  = 157  $\mu\text{mols mL}^{-1}$ ).

Keywords: Gesneriaceae. *Sinningia reitzii*. Naphthoquinones. Antimicrobial activity. Antioxidant activity. Cytotoxic activity.

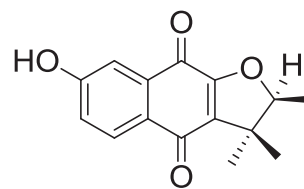
## ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS



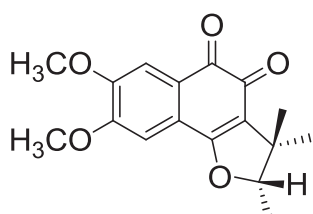
**SR1**



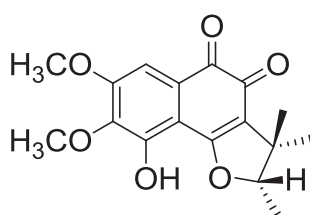
**SR2**



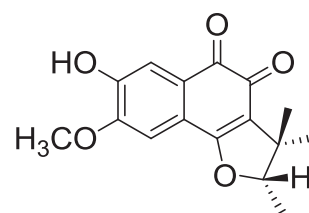
**SR3**



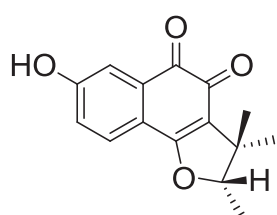
**SR4**



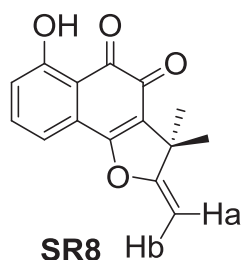
**SR5**



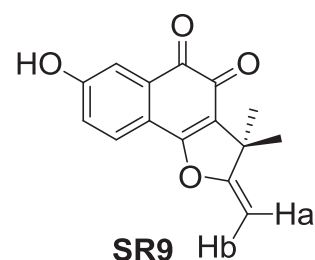
**SR6**



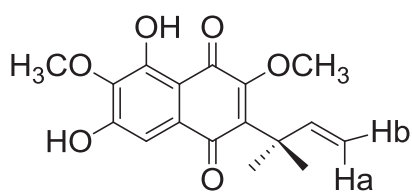
**SR7**



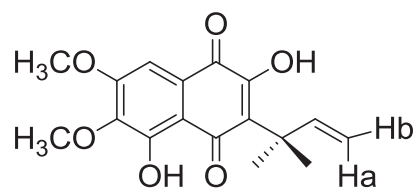
**SR8**



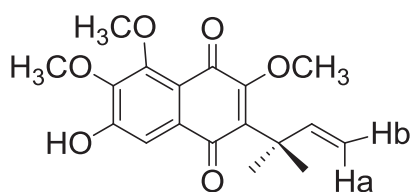
**SR9**



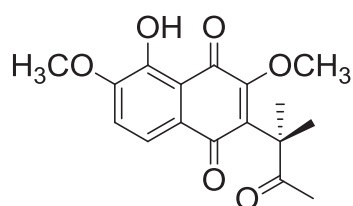
**SR10**



**SR11**



**SR12**



**SR13**

Os resultados parciais desta pesquisa foram descritos nos seguintes artigos:

**SOARES, A. S.**; BARBOSA, F. L.; RÜDIGER A. L.; HUGHES, D. L.; SALVADOR, M. J.; ZAMPRONIO, A. R.; STEFANELLO, M. É. A. Naphthoquinones of *Sinningia reitzii* and Anti-inflammatory/Antinociceptive Activities of 8-Hydroxydehydrodunnione. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 6, p. 1837-1843, 2017.

**SILVA, A. S.**; AMORIM, M. S.; Fonseca, M. M.; Salvador, M. J.; Sá, E. L.; Stefanello, M. E. A. A new cytotoxic naphthoquinone and other chemical constituents of *Sinningia reitzii*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019, <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190054>

## LISTA DE ESQUEMAS E FIGURAS

ESQUEMA 1-	EXTRAÇÃO DOS TUBÉRCULOS DE <i>Sinningia reitzii</i> .....	52
ESQUEMA 2-	REAÇÕES REALIZADAS COM A DUNNIONA.....	104
FIGURA 1-	ALGUMAS ESPÉCIES ORNAMENTAIS DA FAMÍLIA GESNERIACEAE.....	27
FIGURA 2-	ALGUMAS ESPÉCIES ORNAMENTAIS DE <i>Sinningia</i> .....	29
FIGURA 3-	NAFATOQUINONAS ISOLADAS DE <i>Sinningia</i> spp.....	32
FIGURA 4-	DERIVADOS DE NAFATOQUINONAS ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	33
FIGURA 5-	ANTRAQUINONAS ISOLADAS DE <i>Sinningia</i> spp.....	34
FIGURA 6-	FLAVONOIDES ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	35
FIGURA 7-	NAFTOCROMENOS ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	37
FIGURA 8-	SESQUITERPENOS ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	38
FIGURA 9-	TRITERPENOS ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	39
FIGURA 10-	ESTERÓIDES ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	40
FIGURA 11-	GLICOSÍDEOS FENÓLICOS ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	41
FIGURA 12-	CICLOEXILETANÓIDES ISOLADOS DE <i>Sinningia</i> spp.....	42
FIGURA 13A-	OUTRAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Sinningia</i> spp (1ª parte).....	44
FIGURA 13B-	OUTRAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>Sinningia</i> spp (2ª parte).....	45
FIGURA 14-	FOTOS DE <i>Sinningia reitzii</i> : EXEMPLAR FLORIDO.....	47
FIGURA 15-	FOTOS DE <i>Sinningia reitzii</i> : EXEMPLARES DE TUBÉRCULOS INTEIROS E FATIADOS.....	47
FIGURA 16-	ESTRUTURA DO GRUPO 2,3,3-TRIMETIL-2,3- DIIDROFURANO, E OS SEUS DESLOCAMENTOS QUÍMICOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN.....	63
FIGURA 17-	ESTRUTURA DA DUNNIONA E DA $\alpha$ -DUNNIONA, E OS DESLOCAMENTOS QUÍMICOS TÍPICOS DE C1-C4.....	64
FIGURA 18-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR1</b> .....	65

FIGURA 19-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR1</b> .....	66
FIGURA 20-	ESPECTRO NO IV de <b>SR1</b> .....	67
FIGURA 21-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	67
FIGURA 22-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHZ).....	68
FIGURA 23-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	68
FIGURA 24-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	69
FIGURA 25-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR2</b> .....	71
FIGURA 26-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR2</b> .....	72
FIGURA 27-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR2</b> .....	72
FIGURA 28-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR2</b> .....	73
FIGURA 29-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR2</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	73
FIGURA 30-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR2</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHZ).....	74
FIGURA 31-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR2</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	74
FIGURA 32-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR2</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	75
FIGURA 33-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR3</b> .....	76
FIGURA 34-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR3</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	77
FIGURA 35-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR3</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 HZ).....	78
FIGURA 36-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR3</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	78
FIGURA 37-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR4</b> .....	80
FIGURA 38-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR4</b> .....	81
FIGURA 39-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR4</b> .....	81
FIGURA 40-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR4</b> .....	82
FIGURA 41-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR4</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHZ).....	82
FIGURA 42-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR4</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHZ).....	83

FIGURA 43-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR4</b> (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHZ).....	83
FIGURA 44-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR4</b> (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHZ).....	84
FIGURA 45-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR5</b> .....	86
FIGURA 46-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR5</b> .....	87
FIGURA 47-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR5</b> .....	87
FIGURA 48-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR5</b> .....	88
FIGURA 49-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR5</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	88
FIGURA 50-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR5</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHZ).....	89
FIGURA 51-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR5</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	89
FIGURA 52-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTANCIA DE <b>SR5</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	90
FIGURA 53-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR6</b> .....	92
FIGURA 54-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR6</b> .....	93
FIGURA 55-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR6</b> .....	93
FIGURA 56-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR6</b> .....	94
FIGURA 57-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	94
FIGURA 58-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHZ).....	95
FIGURA 59-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	95
FIGURA 60-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR6</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	96
FIGURA 61-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR7</b> .....	98
FIGURA 62-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR7</b> .....	99
FIGURA 63-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	99
FIGURA 64-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHZ).....	100



FIGURA 65-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	100
FIGURA 66-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR7</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	101
FIGURA 67-	ESPECTRO DE DICROÍSMO CIRCULAR DE <b>SR2</b> .....	105
FIGURA 68-	ESPECTRO DE DICROÍSMO CIRCULAR DE <b>SR4</b> .....	105
FIGURA 69-	FOTO DOS CRISTAIS DE <b>SR4</b> .....	106
FIGURA 70-	ESTRUTURA DO GRUPO 3,3-DIMETIL-2-METILENO-2,3-DIIDROFURANO, COM OS SEUS DESLOCAMENTOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ .....	108
FIGURA 71-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR8</b> .....	110
FIGURA 72-	ILUSTRAÇÃO DA ESTRUTURA DE <b>SR8</b> OBTIDA POR CRISTALOGRAFIA DE RAIOS X.....	111
FIGURA 73-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR8</b> .....	111
FIGURA 74-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR8</b> .....	112
FIGURA 75-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR8</b> .....	112
FIGURA 76-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	113
FIGURA 77-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,62 E 7,52 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	113
FIGURA 78-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,30 E 7,11 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	114
FIGURA 79-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 4,95 E 4,43 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	114
FIGURA 80-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHZ).....	115
FIGURA 81-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	115
FIGURA 82-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR8</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 HZ).....	116
FIGURA 83-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR9</b> .....	118
FIGURA 84-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR9</b> .....	119

FIGURA 85-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR9</b> .....	119
FIGURA 86-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR9</b> .....	120
FIGURA 87-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	120
FIGURA 88-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,62 E 7,56 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	121
FIGURA 89-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 7,16 E 7,10 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	121
FIGURA 90-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_{\text{H}}$ 4,96 E 4,45 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	122
FIGURA 91-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHZ).....	122
FIGURA 92-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	123
FIGURA 93-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR9</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHZ).....	123
FIGURA 94-	ESTRUTURA DO GRUPO 3,3-DIMETILALILA, COM OS DESLOCAMENTOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ .....	124
FIGURA 95-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR10</b> .....	125
FIGURA 96-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR10</b> .....	127
FIGURA 97-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR10</b> .....	127
FIGURA 98-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR10</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	128
FIGURA 99-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DE <b>SR10</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHZ).....	128
FIGURA 100-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR10</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	129
FIGURA 101-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR10</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHZ).....	129
FIGURA 102-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR11</b> .....	131
FIGURA 103-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR11</b> .....	132
FIGURA 104-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR11</b> .....	132
FIGURA 105-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR11</b> .....	133
FIGURA 106-	ESPECTRO DE RMN DE $^1\text{H}$ DE <b>SR11</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHZ).....	133

FIGURA 107-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_H$ 7,33 E 7,20 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1H$ DE <b>SR11</b> ( $CDCl_3$ , 400 MHZ).....	134
FIGURA 108-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_H$ 6,31 E 6,24 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1H$ DE <b>SR11</b> ( $CDCl_3$ , 400 MHZ).....	134
FIGURA 109-	EXPANSÃO ENTRE $\delta_H$ 5,02 E 4,93 DO ESPECTRO DE RMN DE $^1H$ DE <b>SR11</b> ( $CDCl_3$ , 400 MHZ).....	135
FIGURA 110-	ESPECTRO DE RMN $^{13}C$ DA MISTURA DE <b>SR2</b> E <b>SR11</b> ( $CDCl_3$ , 100 MHZ).....	135
FIGURA 111-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1H$ - $^{13}C$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR11</b> ( $CDCl_3$ , 600 MHZ).....	136
FIGURA 112-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1H$ - $^{13}C$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR11</b> ( $CDCl_3$ , 600 MHZ).....	136
FIGURA 113-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR12</b> .....	138
FIGURA 114-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR12</b> .....	139
FIGURA 115-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR12</b> .....	139
FIGURA 116-	ESPECTRO DE RMN DE $^1H$ DE <b>SR12</b> ( $CDCl_3$ , 400 MHZ). .....	140
FIGURA 117-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1H$ - $^{13}C$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR12</b> ( $CDCl_3$ , 400 MHZ).....	140
FIGURA 118-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1H$ - $^{13}C$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR12</b> ( $CDCl_3$ , 400 MHZ).....	141
FIGURA 119-	ESTRUTURA DO GRUPO 1,1-DIMETIL-2OXOPROPILA, COM OS DESLOCAMENTOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN DE $^1H$ .....	142
FIGURA 120-	ESTRUTURA DA STREPTOCARPONA.....	142
FIGURA 121-	ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE <b>SR13</b> .....	144
FIGURA 122-	ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE <b>SR13</b> .....	145
FIGURA 123-	ESPECTRO NO UV-VIS DE <b>SR13</b> .....	145
FIGURA 124-	ESPECTRO NO IV DE <b>SR13</b> .....	146
FIGURA 125-	ESPECTRO DE RMN DE $^1H$ DE <b>SR13</b> ( $CDCl_3$ , 400 MHZ).....	146
FIGURA 126-	ESPECTRO DE RMN DE $^{13}C$ DE <b>SR13</b> ( $CDCl_3$ , 100 MHZ).....	147

FIGURA 127-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A UMA LIGAÇÃO DE <b>SR13</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).....	147
FIGURA 128-	MAPA DE CORRELAÇÃO $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ A LONGA DISTÂNCIA DE <b>SR13</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).....	148
FIGURA 129-	ESTRUTURA DA DOXORRUBICINA.....	151
FIGURA 130-	ESTRUTURAS DE AAPH, FLUORESCEÍNA, QUERCETINA, ISOQUERCETINA, ÁCIDO CAFEÍCO, ÁCIDO CLOROGÊNICO E TROLOX.....	153

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1-	RENDIMENTO DOS EXTRATOS DOS TUBÉRCULOS DE <i>S. reitzii</i> .....	52
TABELA 2-	AGRUPAMENTO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DO EXTRATO <b>SRD</b> .....	53
TABELA 3-	AGRUPAMENTO DAS SUBFRAÇÕES RESULTANTES DO FRACIONAMENTO DE <b>SRD 38</b> .....	54
TABELA 4-	AGRUPAMENTO DAS SUBFRAÇÕES RESULTANTES DO FRACIONAMENTO DE <b>SRD 82</b> .....	55
TABELA 5-	AGRUPAMENTO DAS FRAÇÕES RESULTANTES DO FRACIONAMENTO DE <b>SRA</b> .....	57
TABELA 6-	DADOS DE RMN DE <b>SR1</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA 8-HIDROXIDUNNIONA (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHZ).....	66
TABELA 7-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) DE <b>SR2</b> .....	71
TABELA 8-	DADOS DE RMN DE <b>SR3</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) EM COMPARAÇÃO COM OS DA LITERATURA PARA 7-HIDROXI- $\alpha$ -DUNNIONA (ACETONA-D <sub>6</sub> , 500 MHZ).....	77
TABELA 9-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHZ) DE <b>SR4</b> .....	80
TABELA 10-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) DE <b>SR5</b> .....	86
TABELA 11-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) DE <b>SR6</b> .....	92
TABELA 12-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) DE <b>SR7</b> EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA A 7-HIDROXIDUNNIONA (CDCl <sub>3</sub> , 200 MHZ).....	98
TABELA 13-	VALORES DE ROTAÇÃO ÓTICA DAS NAFTOQUINONAS <b>SR1-SR7</b> .....	107
TABELA 14-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) DE <b>SR8</b> .....	110
TABELA 15-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) DE <b>SR9</b> .....	118
TABELA 16-	DADOS DE RMN DE <b>SR10</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS PARA 2-O-METIL-7-METOXI-6,8-DIIDROXIDUNNIOL (ACETONA-D <sub>6</sub> , 400 MHZ).....	126

TABELA 17-	DADOS DE RMN DE <b>SR11</b> (CDCl <sub>3</sub> , 600 MHZ).....	131
TABELA 18-	DADOS DE RMN DE <b>SR12</b> (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ).....	138
TABELA 19-	DADOS DE RMN (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHZ) DE <b>SR13</b> .....	144
TABELA 20-	DADOS DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS DOS TUBÉRCULOS DE <i>S. reitzii</i> .....	149
TABELA 21-	DADOS DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS SUBSTÂNCIAS <b>SR1</b> , <b>SR2</b> , <b>SR4</b> E <b>SR8</b> .....	151
TABELA 22-	DADOS DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS TUBÉRCULOS DE <i>S. reitzii</i> PELO ENSAIO ORAC.....	152
TABELA 23-	DADOS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS TUBÉRCULOS DE <i>S. reitzii</i> .....	154



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b><math>[\alpha]_{\text{D}}^{25}</math></b>	Rotação específica à 25°C
<b>AcOEt</b>	Acetato de etila
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>
<b>CC</b>	Cromatografia clássica em coluna aberta
<b>CCDA</b>	Cromatografia em camada delgada analítica
<b>CCDP</b>	Cromatografia em camada delgada preparativa
<b><math>\text{CDCl}_3</math></b>	Clorofórmio Deuterado
<b>CLAE-DAD</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos
<b>DC</b>	Dicroísmo circular
<b>DCM</b>	Diclorometano
$\delta$	Deslocamento químico
<b><i>d</i></b>	Dupleto
<b><i>dd</i></b>	Dublo dupleto
$\varepsilon$	Absortividade molar
<b>EM-AR</b>	Espectrometria de massas de alta resolução
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>Hex</b>	Hexano
<b>HMBC</b>	<i>Heteronuclear multiple bond coherence</i> (correlação heteronuclear à múltiplas ligações)
<b>HPLC</b>	<i>High performance liquid chromatography</i> (cromatografia líquida de alta eficiência)
<b>HSQC</b>	<i>Heteronuclear single quantum coherence</i> (correlação heteronuclear a uma ligação)
<b>IV</b>	Infravermelho
<b><i>m/z</i></b>	Relação massa / carga
<b>min</b>	minutos
<b>NOE</b>	Efeito nuclear <i>overhauser</i>
<b>N.O.</b>	Não observado
<b><i>q</i></b>	Quarteto

<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>s</b>	Simpleto
<b>s/</b>	Simpleto largo
<b>SRA</b>	Extrato de <i>Sinningia reitzii</i> em Acetato de Etila
<b>SRD</b>	Extrato de <i>Sinningia reitzii</i> em Diclorometano
<b>SRE</b>	Extrato de <i>Sinningia reitzii</i> em Etanol
<b>SRH</b>	Extrato de <i>Sinningia reitzii</i> em Hexano
<b>t</b>	Tripleto
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>UFPR</b>	Universidade Federal do Paraná
<b>UV-Vis</b>	Região de comprimentos de onda no ultravioleta e visível
$\lambda_{\text{max}}$	Comprimento de onda máximo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	25
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	26
2.1	A FAMÍLIA GESNERIACEAE.....	26
2.2	O GÊNERO <i>Sinningia</i> .....	28
2.3	A ESPÉCIE <i>Sinningia reitzii</i> .....	46
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	48
3.1	OBJETIVO GERAL.....	48
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	49
4.1	PROCEDIMENTOS GERAIS.....	49
4.2	MATERIAL VEGETAL.....	51
4.3	PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	51
4.4	ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	53
4.4.1	Isolamento dos constituintes do extrato SRD.....	53
4.4.2	Isolamento dos constituintes do extrato SRA.....	56
4.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	57
4.5.1	Avaliação da atividade citotóxica.....	57
4.5.2	Avaliação da atividade antioxidante.....	58
4.5.3	Avaliação da atividade antimicrobiana.....	59
4.6	DADOS FÍSICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.....	59
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	63
5.1	NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 2,3,3-TRIMETIL-2,3-DIIDRO-FURANO.....	63
5.1.1	Determinação estrutural de <b>SR1</b> .....	64
5.1.2	Determinação estrutural de <b>SR2</b> .....	70
5.1.3	Determinação estrutural de <b>SR3</b> .....	76
5.1.4	Determinação estrutural de <b>SR4</b> .....	79
5.1.5	Determinação estrutural de <b>SR5</b> .....	85
5.1.6	Determinação estrutural de <b>SR6</b> .....	91
5.1.7	Determinação estrutural de <b>SR7</b> .....	97

5.1.8	Configuração absoluta e pureza ótica das naftoquinonas <b>SR1-SR7</b> .....	102
5.2	NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 3,3-DIMETIL-2-METILENO-2,3-DIIDROFURANO.....	108
5.2.1	Determinação estrutural de <b>SR8</b> .....	108
5.2.2	Determinação estrutural de <b>SR9</b> .....	117
5.3	NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 3,3-DIMETILALILA.....	124
5.3.1	Determinação estrutural de <b>SR10</b> .....	124
5.3.2	Determinação estrutural de <b>SR11</b> .....	130
5.3.3	Determinação estrutural de <b>SR12</b> .....	137
5.4	NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 1,1-DIMETIL-2-OXOPROPILA....	142
5.4.1	Determinação estrutural de <b>SR13</b> .....	142
5.5	ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	149
5.5.1	Atividade Citotóxica.....	149
5.5.2	Atividade Antioxidante.....	152
5.5.3	Atividade Antimicrobiana.....	154
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	155
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	156

## 1 INTRODUÇÃO

Produtos naturais (metabólitos secundários) são os produtos do metabolismo que não são essenciais para o crescimento, desenvolvimento ou reprodução de um organismo. Frequentemente são produzidos em resposta a estímulos externos, como variações de nutrientes, infecção e competição com outras espécies (STROHL, 2000). As fontes de metabólitos secundários são plantas, bactérias, fungos e organismos marinhos (VAISHNAV; DEMAIN, 2010).

As plantas são as principais fontes de produtos naturais. Cada espécie produz um conjunto de metabólitos secundários adequado às demandas particulares do seu nicho ecológico. A diversidade química dos metabólitos secundários reflete as diferenças entre os organismos, com suas particularidades morfológicas e enzimáticas (HARTMANN, 2007). O metabolismo secundário vegetal tem sido uma rica fonte de novas substâncias biologicamente ativas, muitas das quais se tornaram extremamente importantes na terapia (NEWMAN et al., 2008).

Os metabólitos secundários não são apenas utilizados como fármacos pelos homens, mas também como cosméticos (MARTINS et al., 2014; GECHEV et al., 2014), conservantes (HUGO; HUGO, 2015; GYAWALI; IBRAHIM, 2014; STOJKOVIĆ et al., 2014), agroquímicos (DAYAN et al., 2009; PENG et al., 2003; GERWICK; SPARKS, 2014), nutracêuticos, etc (WEIDNER et al., 2012; DAS et al., 2012; NOBILI et al., 2009; MCCHESENEY et al., 2007).

É estimado que haja aproximadamente 300.000 espécies de plantas superiores (MCCHESENEY et al., 2007). Apesar de um intenso trabalho nas últimas décadas, apenas cerca de 15% têm sido investigada quimicamente e, aproximadamente 6% farmacologicamente (NEWMAN et al., 2008; YUNES; CEQUINEL-FILHO, 2016).

Nos últimos anos, além das plantas, a busca por novos fármacos tem se direcionado também aos fungos (WIEMANN; KELLER, 2014; ALY et al., 2010), bactérias (ELSHAHAWI et al., 2015; HOU et al., 2012; GENILLOUD et al., 2011), e organismos marinhos (BLUNT et al., 2010; HILL, 2011; BRUSOTTI et al., 2014).

A investigação química, principalmente de famílias pouco conhecidas, é importante para a descoberta de novas moléculas, que possam ser utilizadas diretamente na terapia ou como modelo de novos fármacos. Além desse aspecto utilitário, os estudos fitoquímicos contribuem para a compreensão das relações

filogenéticas entre os táxons (quimiossistemática), e para documentar a composição química de espécies que podem vir a ser extintas no futuro próximo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A FAMÍLIA GESNERIACEAE

A família Gesneriaceae pertence à ordem das Lamiales, juntamente com outras 24 famílias, das quais podem ser destacadas Bignoniaceae, Calceolariaceae, Lamiaceae, Oleaceae, Scrophulariaceae e Verbenaceae (REFULIO-RODRIGUEZ; OLMSTEAD, 2014).

Gesneriaceae Rich. & Juss. é uma família pantropical, com cerca de 150 gêneros e 3000 espécies. No Brasil ocorrem 28 gêneros e 221 espécies, sendo 140 espécies endêmicas. Os maiores gêneros são *Sinningia* (72 spp), *Nematanthus* (32 spp) e *Besleria* (21 spp) (ARAÚJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2015).

Esta família é comumente dividida em duas subfamílias, Gesnerioideae e Cyrtandroideae. Essa divisão leva em consideração o crescimento igual (Gesnerioideae) ou desigual (Cyrtandroideae) dos cotilédones e também o desenvolvimento do endosperma, que não ocorre em Cyrtandroideae. Essas duas subfamílias estão localizadas em diferentes regiões do planeta, sendo que as espécies da subfamília Gesnerioideae ocorrem nas Américas, enquanto que as espécies da subfamília Cyrtandroideae estão localizadas na África, Ásia, Europa e Oceania. Uma exceção é a tribo Coronanthereae que se distribui na Austrália e América do Sul, mas pertence à subfamília Cyrtandroideae (ARAÚJO et al., 2005; PERRET et al., 2013).

As espécies da família Gesneriaceae podem ser ervas, arbustos ou subarbustos, sendo que em alguns gêneros, como *Sinningia*, são encontrados rizomas ou tubérculos (WEBER, 2004). Suas folhas são normalmente opostas e com pelos, e a inflorescência é axilar ou terminal, com flores coloridas em forma de tubo. Os frutos são em cápsula ou baga e as sementes são pequenas e numerosas (BOGGAN; SHALIT, 2006; KRAHL et al., 2014; AFFONSO et al., 2014). Podem crescer no solo (terrestres), sobre outras plantas (epífitas) ou sobre pedras (rupícolas) (CHAUTEMS et al., 2010).



Gesneriaceae é considerada uma família de plantas ornamentais, com várias espécies cultivadas e comercializadas em todo o mundo. A espécie ornamental mais conhecida aqui no Brasil é a violeta-africana (*Saintpaulia ionantha*). Também podem ser citadas as espécies de *Aeschynanthus* (“planta-batom”) e *Nematanthus* (“peixinho”) (Figura 1).

**FIGURA 1-** ALGUMAS ESPÉCIES ORNAMENTAIS DA FAMÍLIA GESNERIACEAE.

**A:** *Saintpaulia ionantha* (violeta-africana); **B:** *Aeschynanthus* spp (planta-batom);

**C:** *Nematanthus* spp (peixinho).



FONTE: o autor

Talvez pelo fato de serem consideradas ornamentais, há relativamente poucos relatos de uso das gesneriaceas na medicina popular. Estes incluem o emprego contra febre, problemas respiratórios (tosse, resfriado, gripe), inflamação, feridas, dores, picadas de cobra, e doenças infecciosas. Os estudos biológicos também são escassos, e mostram que algumas espécies apresentam atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, e citotóxica (VERDAN; STEFANELLO, 2012). *Chirita sinensis*, uma gesneriaceae nativa da China, tem sido utilizada no preparo de um medicamento para tratar pancreatite crônica (YANG, 2014).

Diversas classes de metabólitos secundários já foram descritas para a família Gesneriaceae. Os principais são flavonoides, terpenoides, glicosídeos fenólicos, e quinonas (VERDAN; STEFANELLO, 2012). Glicosídeos contendo grupos feniletila e cafeoíla são considerados marcadores químicos da família. A sua presença, juntamente com a ausência de iridoides, distingue Gesneriaceae das demais famílias da ordem Lamiales (JENSEN, 1996).

## 2.2 O GÊNERO *Sinningia*

O gênero *Sinningia* Nees compreende entre 70-80 espécies, de distribuição neotropical. É encontrado entre o Sul do México e o Norte da Argentina, com a maioria das espécies ocorrendo no Brasil, principalmente nas regiões Sul e Sudeste do país. Atualmente são reconhecidas 75 espécies brasileiras, correspondendo a quase um terço das espécies brasileiras de Gesneriaceae (ARAUJO; CHAUTEMS, 2015; CHAUTEMS; PEIXOTO; ROSSINI, 2015; CHAUTEMS et al., 2019 ).

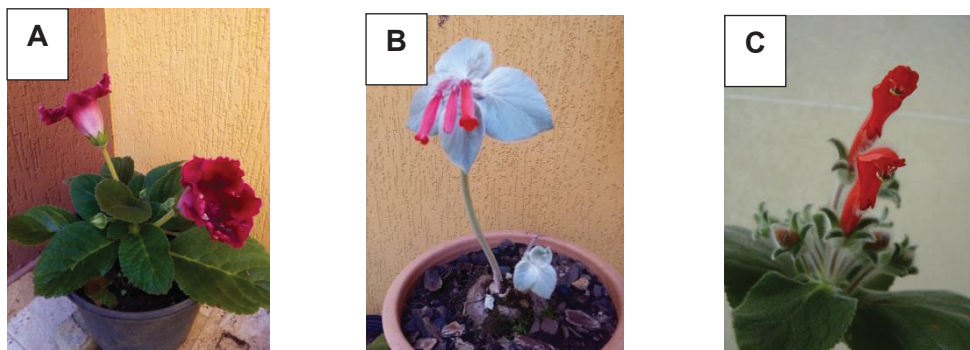
As espécies de *Sinningia* são ervas ou subarbustos com caule carnoso ou lenhoso na parte basal, sem raízes adventícias. A maioria apresenta um tubérculo perene e um ciclo anual de desenvolvimento. As partes aéreas crescem durante o período chuvoso (primavera/verão) e fenecem no período de seca (outono/inverno), deixando as gemas dormentes nos tubérculos, que renascem na próxima primavera (CHAUTEMS, 2003). Entretanto algumas espécies são exceção a este padrão. Como exemplos, podem ser citadas *Sinningia mauroana*, que é uma erva perene, com tubérculo reduzido (CHAUTEMS, 2003), e *S. gerdiana* que não possui tubérculos (CHAUTEMS et al., 2010).

No Estado do Paraná a família Gesneriaceae está representada por sete gêneros e 37 espécies, das quais 23 pertencem ao gênero *Sinningia* (HINOSHITA, 2017).

Como outros membros da família, as espécies de *Sinningia* têm um grande potencial ornamental. É bastante comercializada no Brasil a espécie *Sinningia speciosa*, conhecida como “gloxínia” (ZAITLIN, 2012). Outra espécie de relevância comercial é *Sinningia leucotricha*, que no Brasil tem o nome popular de rainha-do-abismo, sendo comercializada no exterior com o nome de “brazilian edelweiss” (UNEMOTO et al., 2006). A exploração comercial bem como a degradação ambiental causada pela agricultura, pecuária, e expansão urbana, tem colocado em risco várias espécies de *Sinningia* (CHAUTEMS et al., 2010). Atualmente, 23 espécies são consideradas ameaçadas (BRASIL, 2014). Faz parte dessa lista a espécie *Sinningia hatschbachii* (sem nome popular), uma erva pequena, com belas flores vermelhas, que ocorre apenas na Serra do Mar dos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina (CHAUTEMS, 2003) (Figura 2).

**FIGURA 2-** ALGUMAS ESPÉCIES ORNAMENTAIS DE *Sinningia*.

**A:** *S. speciosa*; **B:** *S. leucotricha*; **C:** *S. hatschbachii*.



FONTE: o autor

O uso de *Sinningia* na medicina popular é restrito a poucas espécies. *S. incarnata* é utilizada no México contra diarreia, disenteria, e também como contraceptivo e revitalizante (WIEHLER, 1995; CARBONÓ-DELABOZ; DIB-DIAZ-GRANADOS 2013; BORK et al., 1997). *S. tubiflora* é empregada como purgativo na Argentina (WIEHLER, 1995). *S. warmingii* é utilizada pelos índios peruanos para o tratamento de enfermidades ginecológicas, como inflamação puerperal e infecções de origem bacteriana e fúngica (CASANA et al., 2012). No Brasil, os tubérculos de *S. allagophylla* são considerados úteis como tônico e emoliente, enquanto que as partes aéreas são empregadas como diurético e febrífugo (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000; GOMES; SHEPHERD, 2000). Outra espécie utilizada no Brasil é *S. macrostachya*, considerada útil para o tratamento de problemas renais (CEOLIN, 2009).

Dentre essas espécies consideradas medicinais, apenas duas foram investigadas. Os extratos dos tubérculos de *S. warmingii* não apresentaram atividade antimicrobiana significativa, de modo que o uso popular contra infecções não foi justificado (WINIEWSKI et al., 2017). Por outro lado, a presença de aggregatina D (12, Figura 4, p. 33), uma substância com comprovada ação anti-inflamatória, poderia apoiar o uso desta planta contra inflamações (VERDAN et al., 2014; SOUZA et al., 2015). Os tubérculos de *S. allagophylla* apresentaram atividade citotóxica e anti-inflamatória, mas a alegada ação tônica não foi investigada (RIVA et al., 2012; BARBOSA et al, 2013).

Desconsiderando o trabalho atual, foram realizados anteriormente estudos

fitoquímicos com oito espécies de *Sinningia*: *S. allagophylla* (RIVA et al., 2012; SCHARF et al., 2016); *S. aggregata* (VERDAN et al., 2010; 2015a); *S. canescens* (VERDAN et al., 2014; 2017), *S. cardinalis* (JENSEN, 1996), *S. hatschbachii* (AMORIM et al., 2017), *S. leucotricha* (VERDAN et al., 2015b; 2017), *S. speciosa* (VERDAN et al., 2009), e *S. warmingii* (VERDAN et al., 2014; WINIEWSKI et al., 2017). Estes estudos mostraram que o perfil químico do gênero é bastante diversificado, e inclui quinonas, flavonoides, terpenóides, cromenos, glicosídeos fenólicos, e cicloexiletanóides. Uma breve descrição dessas substâncias, bem como a sua ocorrência em *Sinningia* spp será apresentada a seguir.

Quinonas são metabólitos secundários muito difundidos na natureza, ocorrendo em várias famílias de Angiospermas, como Vicenniaceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Droseraceae, Ebenaceae, Juglandaceae, Nepenthaceae e Plumbagnaceae. Também ocorrem em líquens, algas, bactérias (particularmente no gênero *Streptomyces*), e fungos (*Fusarium*, *Marasmius*, *Verticillium*) (LOPEZ et al., 2011).

Estruturalmente as quinonas são reconhecidas pela presença de dois grupos carbonila em um anel de seis membros. Há vários subgrupos, como as benzoquinonas, as naftoquinonas, e as antraquinonas (BABULA, et al., 2009; LOPEZ et al., 2015). Naftoquinonas e antraquinonas têm sido isoladas de espécies de Gesneriaceae, principalmente dos gêneros *Chirita*, *Didymocarpus*, e *Streptocarpus* (VERDAN; STEFANELLO, 2012).

As naftoquinonas e as antraquinonas podem ser biossintetizadas por uma variedade de rotas, incluindo a rota do acetato/mevalonato, rota combinada chiquimato/succinilCoA, e chiquimato/mevalonato (BABULA, et al., 2009). Esta última rota foi observada em *Streptocarpus dunnii*, uma espécie de Gesneriaceae (INOUE et al., 1984).

Graças ao sistema quinoídico, as naftoquinonas e antraquinonas são geralmente coloridas, sendo responsáveis pelas cores amarela, alaranjado e marrom encontradas em alguns tecidos. Portanto naftoquinonas desempenham um papel importante na pigmentação das plantas (BABULA, et al., 2009).

O interesse de muitos investigadores nestas substâncias é devido á sua ampla atividade biológica, pois podem atuar como bactericida, fungicida, antiparasítica, inseticida, e antitumoral. Além do mais, algumas naftoquinonas têm efeito sedativo, e inibem o desenvolvimento larval, sendo tóxicas para organismos

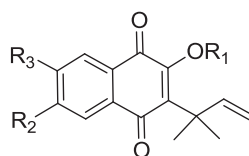
aquáticos e animais (WRIGHT, et al., 2007a; 2007b). Segundo Lopez et al (2011), na maioria dos casos as atividades biológicas das naftoquinonas estão relacionadas com suas propriedades redox e ácido-base, as quais podem ser modificadas sinteticamente pela adição de diferentes substituintes nos anéis. Sendo assim, a síntese de novos derivados de naftoquinonas é importante para o desenvolvimento de novos compostos, que possam ser usados como agentes antiparasitários, antibacterianos, antifúngicos e anticancerígenos.

Naftoquinonas, antraquinonas e derivados de naftoquinonas são os metabólitos secundários mais frequentes em *Sinningia*. Foram encontrados em quase todas as espécies estudadas, com exceção de *S. cardinalis*. As três classes foram encontradas em *S. allagophylla*; naftoquinonas e antraquinonas em *S. canescens*; antraquinonas e derivados de naftoquinonas em *S. aggregata* e *S. warmingii*; naftoquinonas em *S. leucotricha* e *S. hatschbachii*; finalmente, antraquinonas em *S. speciosa*. As estruturas das substâncias e as referências são dadas nas figuras 3-5 (p. 32-34).

Os flavonoides são um grupo de substâncias naturais, com dois anéis aromáticos, unidos por uma unidade de três carbonos, tendo, portanto, o esqueleto básico  $C_6-C_3-C_6$ . Um dos anéis deriva da via do acetato/mevalonato, enquanto o outro deriva da via do chiquimato. São divididos em várias subclasses, dependendo do seu nível de oxidação. Os flavonoides são amplamente distribuídos na natureza, e apresentam várias atividades biológicas, como antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória. Com exceção das diidrochalconas, todos os demais flavonoides são coloridos, e comumente são responsáveis pelas cores dos frutos e flores. (RIJKE et al., 2006; PIETA, 2000; CORRADINI et al., 2011).

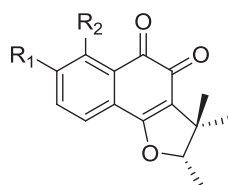
Flavonoides foram registrados em duas espécies de *Sinningia*. Da primeira delas, *S. cardinalis*, foram identificadas várias antocianidinas como responsáveis pela coloração das pétalas. A segunda, *S. hatschbachii*, forneceu três diidrochalconas (Figura 6; p. 35).

**FIGURA 3-** NAFTOQUINONAS ISOLADAS DE *Sinningia* spp.



1.  $R_1 = R_2 = R_3 = H$ : **dunniol** (*S. allagophylla*, RIVA et al., 2012).

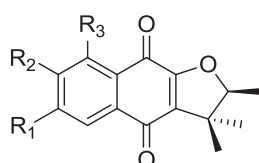
2.  $R_1 = OMe$ ;  $R_2 = OH$ ;  $R_3 = OMe$ : **6-hidroxi-7-metoxi-2-O-metildunniol** (*S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).



3.  $R_1 = R_2 = H$ : **dunniona** (*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016).

4.  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OH$ : **8-hidroxi-dunniona** (*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016).

5.  $R_1 = R_2 = OMe$ : **7,8-dimetoxidunniona** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017).



6.  $R_1 = R_2 = R_3 = H$ :  **$\alpha$ -dunniona** (*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016).

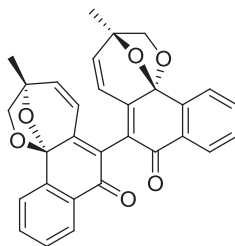
7.  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OH$ ;  $R_3 = H$ : **7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017; 2014; *S. hatschbachii*, AMORIM, et al., 2017; *S. leucotricha* VERDAN et al., 2017; 2015b).

8.  $R_1 = OMe$ ;  $R_2 = OH$ ;  $R_3 = H$ : **7-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -dunniona** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017; 2014; *S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017; *S. leucotricha*, VERDAN et al., 2015b).

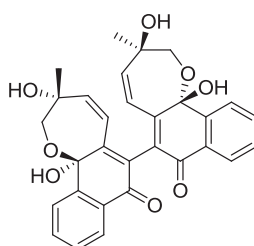
9.  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OMe$ ;  $R_3 = OH$ : **8-hidroxi-7-metoxi- $\alpha$ -dunniona** (*S. canescens*, VERDAN, et al., 2017).



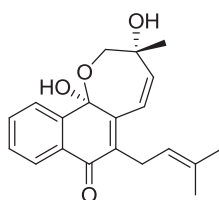
**FIGURA 4-** DERIVADOS DE NAFTOQUINONAS ISOLADOS DE *Sinningia* spp.



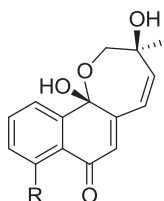
**10. warmingiina A** (*S. warmingii*, WINIEWISKI et al., 2017).



**11. warmingiina B** (*S. warmingii*, WINIEWISKI, et al., 2017).



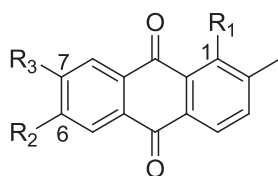
**12. aggregatina D** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a; 2010; *S. warmingii*, VERDAN et al., 2014).



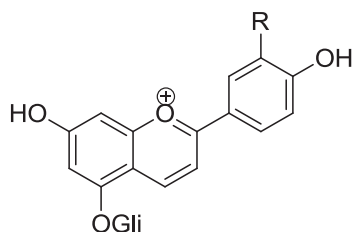
**13. R = H: aggregatina E** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a; *S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016; *S. warmingii*, WINIEWISKI, et al., 2017).

**14. R = OH: aggregatina F** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a; *S. warmingii*, WINIEWISKI et al., 2017).

**FIGURA 5-** ANTRAQUINONAS ISOLADAS DE *Sinningia* spp.

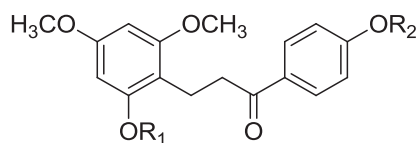


- 15.**  $R_1 = R_2 = R_3 = H$ : **tectoquinona** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a; 2010; *S. allagophylla*, RIVA et al., 2012; *S. canescens*, VERDAN et al., 2014; *S. warmingii*, VERDAN et al. 2014; WINIEWISKI, et al., 2017).
- 16.**  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = OMe$ : **7-metoxitectoquinona** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2010; *S. speciosa*, VERDAN et al., 2009; *S. warmingii*, VERDAN et al., 2014).
- 17.**  $R_1 = OH$ ;  $R_2 = H$ ;  $R_3 = OMe$ : **1-hidroxi-7-metoxitectoquinona** (*S. speciosa*, VERDAN et al., 2009).
- 18.**  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = OH$ : **7-hidroxitectoquinona** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015; VERDAN et al., 2010; *S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016; *S. warmingii*, VERDAN et al., 2014)
- 19.**  $R_1 = OH$ ;  $R_2 = R_3 = H$ : **1-hidroxitectoquinona** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a; *S. warmingii*, VERDAN et al. 2014)
- 20.**  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OMe$ ;  $R_3 = OH$ : **6-metoxi-7-hidroxitectoquinona** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a)
- 21.**  $R_1 = R_2 = OH$ ;  $R_3 = H$ : **1,6-diidroxitectoquinona** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a)
- 22.**  $R_1 = R_3 = H$ ;  $R_2 = OH$ : **6-hidroxitectoquinona** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a)

**FIGURA 6-** FLAVONOIDES ISOLADOS DE *Sinningia* spp.

**23.** R= H: **apigeninidina-5-O-glucopiranosideo** (*S. cardinalis*, WINEFIELD et al., 2005).

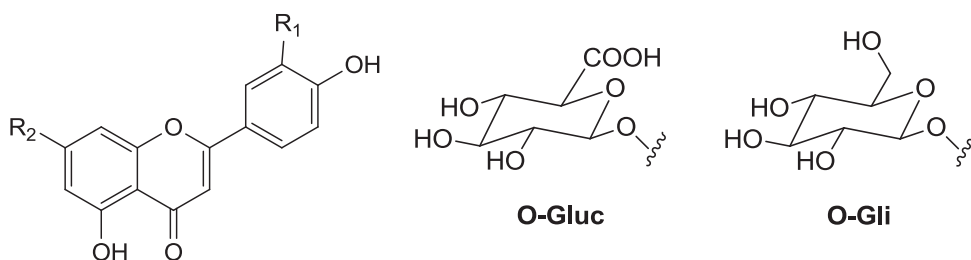
**24.** R= OH: **luteolinidina-5-O-glucopiranosideo** (*S. cardinalis*, WINEFIELD et al., 2005).



**25.** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>: **2,4,4',6-tetrametoxidiidrochalcona** (*S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).

**26.** R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = H: **4'-hidroxi-2,4,6-trimetoxidiidrochalcona** (*S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).

**27.** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H: **4',2-diidroxi-4,6-dimetoxidiidrochalcona** (*S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).



**28.** R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = O-Gli: **luteolina-7-O-glicosideo** (*S. cardinalis*, WINEFIELD et al., 2005)

**29.** R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = O-Gluc: **luteolina-7-O-glucuronideo** (*S. cardinalis*, WINEFIELD et al., 2005)

**30.** R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = O-Gluc: **apigenina-7-O-glucuronideo** (*S. cardinalis*, WINEFIELD et al., 2005)

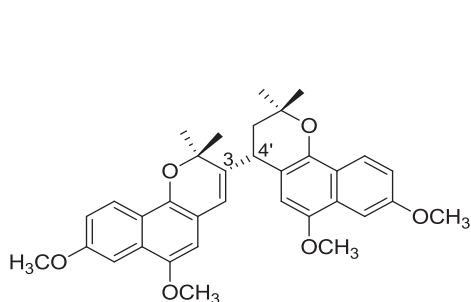
Naftocromenos, também chamados benzopiranos, são substâncias heterocíclicas contendo um anel pirano ligado ao naftaleno. A sua origem biogenética é a mesma das naftoquinonas. Ambas as classes têm como precursor o ácido 1,4-diidroxi-2-naftóico. Por essa razão alguns autores consideram os naftocromenos como análogos das naftoquinonas (ITOIGAWA et al., 2001). Aqui preferimos considerar como classes distintas, uma vez que os naftocromenos não tem o sistema quinoídico.

Em *Sinningia*, naftocromenos foram isolados das espécies *S. allagophylla* e *S. warmingii* (Figura 7, p. 37).

Terpenos são substâncias alifáticas estruturalmente derivadas do isopreno ( $C_5H_8$ ). Ocorrem na natureza como múltiplos dessa unidade básica, sendo classificados de acordo com o número de carbonos ou unidades de isopreno. Os monoterpenos contêm 10 carbonos (duas unidades isoprênicas), os sesquiterpenos contêm 15 carbonos, os diterpenos contêm 20 carbonos, e os triterpenos contêm 30 carbonos. A sua biossíntese ocorre a partir do acetato, pela via acetato/mevalonato e não diretamente do isopreno. É uma classe muito espalhada na natureza. Monoterpenos e sesquiterpenos ocorrem frequentemente como componentes de óleos essenciais. Os triterpenos originam os esteroides, os quais compreendem uma grande classe de compostos encontrados em diversas partes das plantas, sendo no reino vegetal, o equivalente ao colesterol entre os mamíferos. Há evidências de que alguns fitoesteroides são eficazes contra doenças cardiovasculares, reduzindo os níveis de colesterol, sendo por isso, considerados alimentos funcionais e usados atualmente em alguns alimentos industrializados (QUEIROZ, 2009).

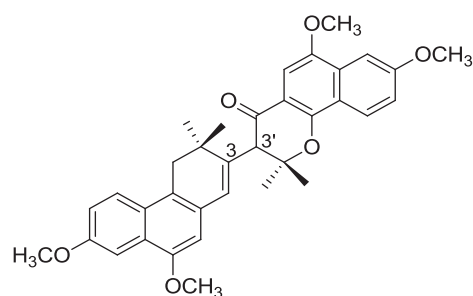
Em *Sinningia* foram encontrados sesquiterpenos e triterpenos nas espécies *S. allagophylla*, *S. canescens* e *S. leucotricha* (Figuras 8 e 9; p. 38-39). Esteroides foram registrados para as espécies *S. allagophylla*, *S. canescens*, *S. speciosa* e *S. warmingii* (Figura 10; p. 40), mas provavelmente ocorrem também nas demais, pois a mistura de sitosterol e estigmasterol é praticamente ubíqua no reino vegetal.

**FIGURA 7-** NAFTOCROMENOS ISOLADOS DE *Sinningia* spp.



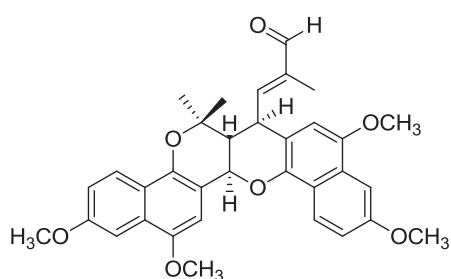
**31. Allagophyllidimero A**

(*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016).



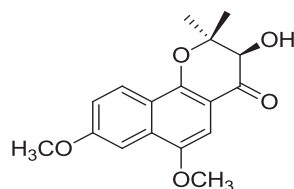
**32. Allagophyllidimero B**

(*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016).

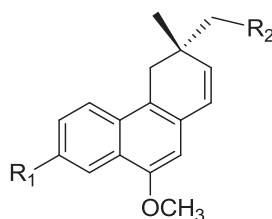


**33. Allagophyllidimero C**

(*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016).



**34. (3R) -3,4-diidro-3-hidroxi-4-oxo-8-metoxilapachenol** (*S.allagophylla*, SCHARF et al., 2016).

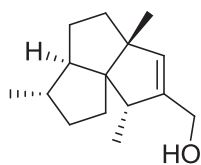


**35.**  $R_1 = R_2 = H$ : **lapachenol** (*S. allagophylla*, RIVA et al., 2012; *S. warmingii*, VERDAN et al., 2014).

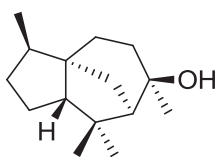
**36.**  $R_1 = OMe$ ;  $R_2 = H$ : **8-metoxilapachenol** (*S. allagophylla*, RIVA et al., 2012).

**37.**  $R_1 = H$ ;  $R_2 = OH$ : **(2S)-12-hidroxilapachenol** (*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016).

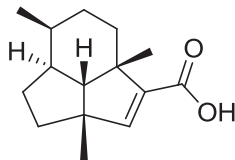
**FIGURA 8-** SESQUITERPENOS ISOLADOS DE *Sinningia* spp.



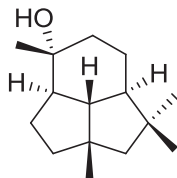
**38. 11-*epi*-subergorgiol** (*S. leucotricha*, VERDAN et al., 2017).



**39. Cedrol** (*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016; *S. canescens*, VERDAN et al., 2017).

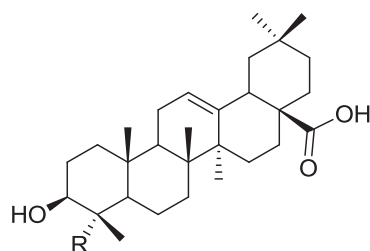


**40. Ácido leucotrichóico** (*S. leucotricha*, VERDAN et al., 2013).



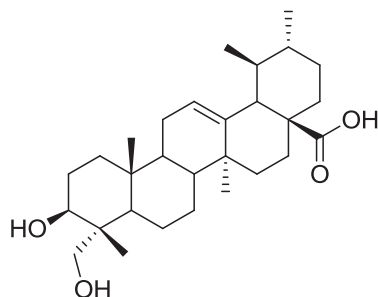
**41. Presilphiperfolan-9-ol** (*S. leucotricha*, VERDAN et al., 2015b).

**FIGURA 9-** TRITERPENOS ISOLADOS DE *Sinningia* spp.

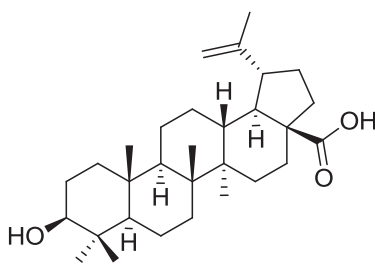


**42.** R = CH<sub>3</sub>: **ácido oleanólico** (*S. allagophylla*, SCHARF et al., 2016)

**43.** R = CH<sub>2</sub>OH: **hederagenina** (*S. leucotricha*, VERDAN et al., 2013)

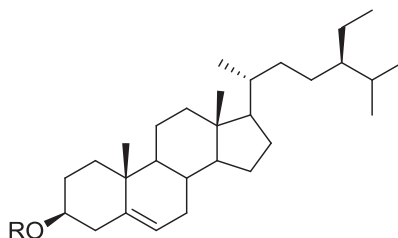


**44.** **Ácido 23-hidroxiursólico** (*S. leucotricha*, VERDAN et al., 2013)



**45.** **Ácido betulínico** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017; *S. leucotricha*, VERDAN et al., 2015b)

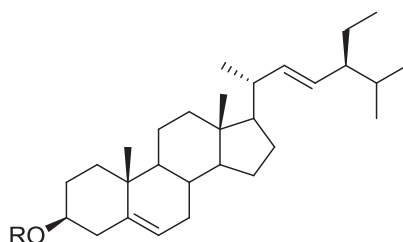
**FIGURA 10-** ESTEROIDES ISOLADOS DE *Sinningia* spp.



**46.** R = H: **sitosterol** (*S. speciosa*, VERDAN et al., 2009; *S. canescens*, VERDAN et al., 2014; *S. warmingii*, VERDAN et al., 2014).

**47.** R = oleíla: **oleato de sitosterila** (*S. allagophylla*, RIVA et al., 2012).

**48.** R = linoleíla: **linoleato de sitosterila** (*S. allagophylla*, RIVA et al., 2012).



**49.** R = H: **estigmasterol** (*S. Speciosa*, VERDANT et al., 2009; *S. canescens*, VERDAN et al., 2014; *S. warmingii*, VERDAN et al., 2014).

**50.** R = oleíla: **oleato de estigmasterila** (*S. allagophylla*, RIVA et al., 2012).

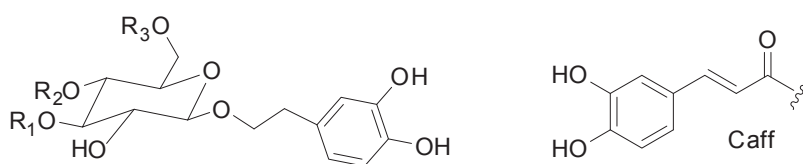
**51.** R = linoleíla: **linoleato de estigmasterila** (*S. allagophylla*, RIVA et al., 2012).

Os glicosídeos fenólicos são substâncias contendo uma unidade açúcar ligada a um ou mais grupos derivados de ácidos ou álcoois aromáticos. Em Gesneriaceae, os glicosídeos fenólicos comumente contêm um grupo feniletila e outro grupo cafeoila (VERDAN; STEFANELLO, 2012). A presença de várias hidroxilas fenólicas confere a estas substâncias uma forte atividade antioxidante. Uma vez que os glicosídeos fenólicos são considerados marcadores químicos da família Gesneriaceae (JENSEN, 1996), é esperado que sejam isolados de espécies de



*Sinningia*. Até o momento foram registrados em cinco espécies: *S. aggregata*, *S. canescens*, *S. cardinalis*, *S. hatschbachii* e *S. leucotricha* (Figura 11; p. 41). Mas é provável que estejam presentes também nas demais, não tendo sido reportadas por que os extratos mais polares não foram investigados.

**FIGURA 11-** GLICOSÍDEOS FENÓLICOS ISOLADOS DE *Sinningia* spp.



**52.**  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = \text{Caff}$ : **calceolariosídeo A** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017)

**53.**  $R_1 = R_3 = H$ ;  $R_2 = \text{Caff}$ : **calceolariosídeo B** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a; *S. canescens*, VERDAN et al., 2017; *S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017; *S. leucotricha*, VERDAN et al., 2017).

**54.**  $R_1 = \text{Caff}$ ;  $R_2 = R_3 = H$ : **plantainosídeo A** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017).

**55.**  $R_1 = \text{xylosila}$ ;  $R_2 = \text{Caff}$ ;  $R_3 = H$ : **conandrosídeo** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017; *S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).

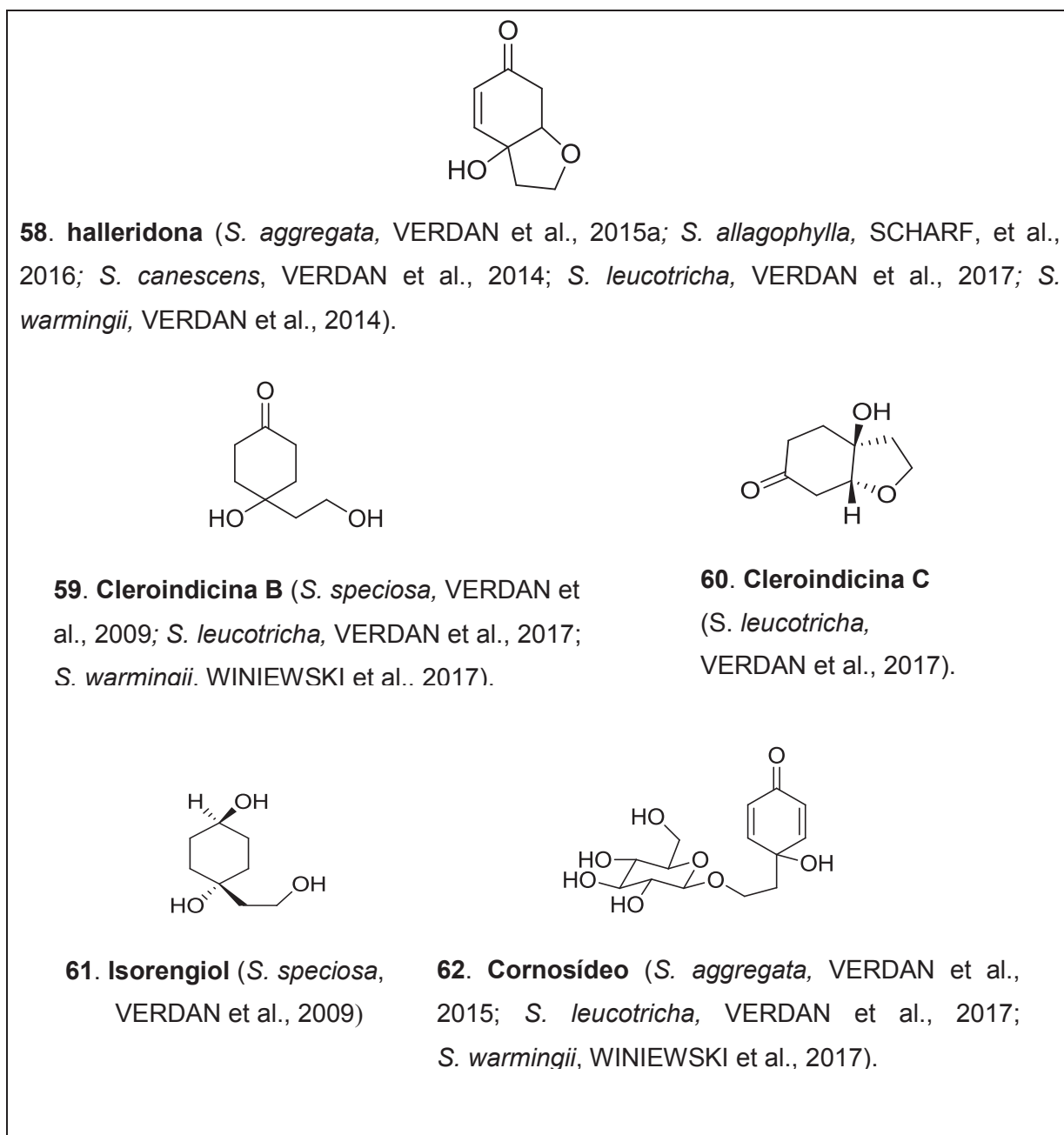
**56.**  $R_1 = \text{rhamnosila}$ ;  $R_2 = H$ ;  $R_3 = \text{Caff}$ : **isoverbascosídeo** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017).

**57.**  $R_1 = \text{rhamnosila}$ ;  $R_2 = \text{Caff}$ ;  $R_3 = H$ : **verbascosídeo** (*S. cardinalis*, WINEFIELD et al., 2005).

Cicloexiletanoides são substâncias do tipo  $C_6-C_2$ , contendo um anel alifático de seis membros, e uma cadeia lateral de dois carbonos, que pode estar aberta ou ciclizada, formando um segundo anel. São comuns em várias famílias da ordem Lamiales, como Bignoniaceae (HASE et al., 1995; RANA; BHANGALIA; SINGH, 2013), Oleaceae (ENDO; HIKINO, 1984), Verbenaceae (SIDDIQUI et al., 2007; TUNTIWACHWUTTIKUL; RAYANIL; TAYLOR, 2003), Scrophulariaceae (ABDULLAHI et al., 1986), e Lamiaceae (XU et al., 2014). Em Gesneriaceae a sua ocorrência parece restrita ao gênero *Sinningia* (VERDAN; STEFANELLO, 2012).

Essas substâncias parecem ser características do gênero *Sinningia*, tendo sido isoladas de seis das oito espécies previamente investigadas (Figura 12; p. 42).

**FIGURA 12-** CICLOEXILETANOIDES ISOLADOS DE *Sinningia* spp.

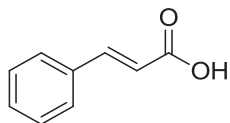


Algumas substâncias de outras classes, além daquelas já mencionadas, também foram isoladas de *Sinningia*. Fenólicos simples como o ácido cinâmico (**63**), o tirosol (**64**), o ferulato de isocosila (**66**) e os parabenos (**69-70**) foram encontrados em *S. cardinalis*, *S. aggregata*, *S. canescens* e *S. hatschbachii*. Em *S. canescens* e *S. leucotricha* foram encontrados benzofuranos (**67-68**). Uma cumarina (**65**) foi isolada de *S. allagophylla*, sendo este o único registro dessa classe de substâncias em Gesneriaceae. Do mesmo modo, etilglicose (**76**), isolada de *S. leucotricha*, foi reportada pela primeira vez na família. Derivados do ácido 2-naftóico (**74-75**), que são intermediários na biossíntese das naftoquinonas, foram isolados de *S. hatschbachii*. Finalmente, *S. aggregata* forneceu três substâncias heterocíclicas (**71-73**), derivadas do naftaleno, contendo um anel de sete membros (oxepino). Até o momento, substâncias com esse esqueleto carbônico só foram encontradas em *Sinningia* (Figuras 13A e 13B, p. 44-45).

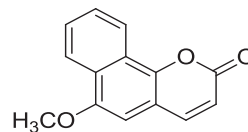
Dentre as substâncias previamente reportadas em *Sinningia*, várias eram inéditas e algumas apresentaram atividade biológica relevante.

A naftoquinona dunniol (**1**, Figura 3; p. 32), isolada de *S. allagophylla*, apresentou atividade citotóxica *in vitro* contra as linhagens de células tumorais humanas de glioma, mama, ovário resistente à múltiplos fármacos e leucemia (RIVA et al., 2012). Outra naftoquinona, 7-hidroxi-6-metoxi- $\alpha$ -dunniona (**8**, Figura 3; p. 32), isolada de *S. canescens*, apresentou atividade analgésica e antitérmica (LOMBA et al., 2017). Aggregatina D (**12**, Figura 4; p. 33), um derivado de naftoquinona isolado de *S. aggregata* e *S. warmingii*, possui atividade citotóxica e analgésica (VERDAN et al., 2014; SOUZA et al., 2015). O naftocromeno 8-metoxilapachenol (**36**, Figura 7; p. 37), isolado pela primeira vez de *S. allagophylla*, apresentou atividade antiinflamatória e analgésica (BARBOSA et al., 2013).

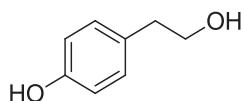
**FIGURA 13A-** OUTRAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Sinningia* spp (1ª parte)



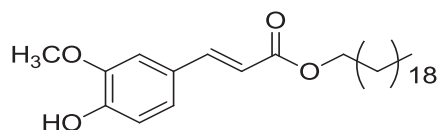
**63. ácido cinâmico** (*S. cardinalis*, WINEFIELD et al., 2005).



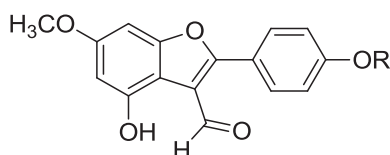
**65. 6-metoxi-7,8-benzocumarina** (*S. allagophylla*, SCHARF, et al., 2016).



**64. tirosol** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a)

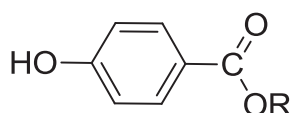


**66. Ferulato de icosila** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2015a).



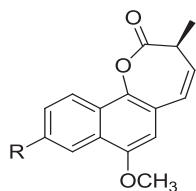
**67. R = H: sinningial A** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017).

**68. R = CH<sub>3</sub>: sinningial B** (*S. leucotricha*, VERDAN et al., 2017).

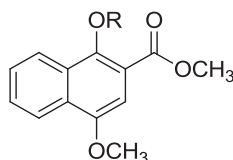


**69. R = CH<sub>3</sub>: metilparabeno** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017; *S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).

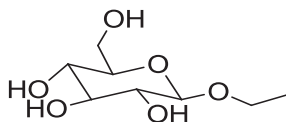
**70. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: etilparabeno** (*S. canescens*, VERDAN et al., 2017).

**FIGURA 13B-** OUTRAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *Sinningia* spp (2ª parte)

- 71.** R = OH: **aggregatina A** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2010).  
**72.** R = H: **aggregatina B** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2010).  
**73.** R = OMe - **aggregatina C** (*S. aggregata*, VERDAN et al., 2010;  
*S. warmingii*, VERDAN et al., 2014).



- 74.** R = H: **1-hidroxi-4-metoxi-2-naftoato de metila**  
(*S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).  
**75.** R = CH<sub>3</sub>: **1,4-dimetoxi-2-naftoato de metila**  
(*S. hatschbachii*, AMORIM et al., 2017).



- 76.** **etilglucose** (*S. leucotricha*, VERDAN et al., 2017).

A revisão apresentada acima mostra que o gênero *Sinningia* é uma fonte de substâncias inéditas e com atividade biológica, tornando relevante a investigação de espécies sem nenhum relato anterior.

Portanto, visando dar continuidade à investigação de *Sinningia* spp, foi selecionada a espécie *S. reitzii*, que não tinha nenhum estudo químico ou biológico desde o início da presente pesquisa até sua finalização.

### 2.3 A ESPÉCIE *Sinningia reitzii*

*Sinningia reitzii* (Hoehne) L. E. Skog (Figuras 14 e 15; p. 47), é um subarbusto perene, rupícola, com caule de 20-120 cm, ereto, ramificado, e coberto por pelos. As raízes são formadas por numerosos tubérculos de pequeno tamanho (1-5 cm). As flores são avermelhadas e polinizadas por beija-flores. (ARAÚJO; CHAUTEMS, 2015).

Essa espécie foi identificada inicialmente como *Rechsteineria reitzii* pelo botânico Frederico Carlos Hoehne, ainda na década de 50, a partir de uma população crescendo em Santa Catarina (HOEHNE, 1958). O nome da espécie, *reitzii*, foi uma homenagem ao Pe. Raulino Reitz, um botânico que muito contribuiu para o conhecimento da flora do estado de Santa Catarina. O Pe. Reitz foi curador do herbário Barbosa Rodrigues (Itajaí), e fundador e editor da revista *Sellowia*, que durante anos publicou artigos sobre a flora catarinense. Posteriormente, o gênero *Rechsteineria* passou a ser *Sinningia*, ficando o nome *Sinningia reitzii*. Em Santa Catarina, várias espécies de *Sinningia*, incluindo *S. reitzii*, são conhecidas como cachimbo (REITZ, 1959).

Esta espécie é endêmica do Brasil, sendo encontrada na Mata Atlântica e na Floresta Ombrófila das regiões Sul (Paraná e Santa Catarina) e Sudeste (São Paulo) do país. (ARAÚJO; CHAUTEMS, 2015; HINOSHITA, 2017). De acordo com Chautems (2003) a população crescendo no estado de S. Paulo, é ligeiramente diferente da população catarinense, de modo que foi classificada como *Sinningia affinis reitzii*. Resta a dúvida se seria outra espécie, muito semelhante à espécie catarinense, ou a mesma espécie que apresenta variações morfológicas devido ao isolamento geográfico (CHAUTEMS, comunicação pessoal). Por outro lado, a população crescendo no Paraná foi identificada como *Sinningia reitzii* (HINOSHITA, 2017). Esta população forneceu o material botânico para o presente trabalho.

**FIGURA 14-** FOTOS DE *S. reitzii*: Exemplar florido.



FONTE: o autor

**FIGURA 15-** FOTOS DE *S. reitzii*: Exemplares de tubérculos inteiros e fatiados.



FONTE: o autor

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo fitoquímico e alguns estudos biológicos com a espécie *Sinningia reitzii*, visando contribuir para o conhecimento dos metabólitos secundários da família Gesneriaceae e, para a descoberta de substâncias com potencial terapêutico.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar extratos dos tubérculos, usando solventes de diferentes polaridades (hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol);
- Fracionar os extratos e purificar os principais metabólitos secundários, usando técnicas cromatográficas;
- Identificar os metabólitos secundários isolados, usando técnicas espectrométricas e espectroscópicas;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos empregando bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos;
- Avaliar a atividade citotóxica dos extratos e substâncias puras utilizando linhagens de células tumorais e não tumorais.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. PROCEDIMENTOS GERAIS

As análises de UV-vis foram realizadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-2401PC (Departamento de Química – UFPR), no comprimento de onda de 200-800 nm e metanol foi usado para solubilizar as amostras.

As análises de IV foram realizadas em um espectrofotômetro Bruker Vertex70 (Departamento de Química – UFPR), usando-se 1% das amostras em pastilhas de KBr.

Experimentos de dicroísmo circular (DC) foram realizados em um espectrômetro JASCO-J-815 (Departamento de Bioquímica – UFPR), em uma cela de 10 dm, usou-se metanol como solvente.

As medidas de rotação específica foram realizadas em um polarímetro JASCO P-2000 POLARIMETER (Departamento de Química – UFPR), com lâmpada de sódio (589 nm), uma cela de 10 dm, a temperatura de 20 °C. As amostras foram preparadas em clorofórmio e os valores de rotação específica foram calculados utilizando-se a seguinte fórmula:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\text{rotação observada em graus} \times 100}{[\text{comprimento da cubeta (dm)} \times \text{concentração g/100 mL}]}$$

As substâncias inéditas isoladas foram submetidas à análise de massas de alta resolução em um espectrômetro de massas Micromass ESI Q-TOF no Laboratório de Espectrometria de Massas Thomson no Instituto de Biologia da Unicamp-SP, ou em um Thermo Scientific LTQ-Orbitrap XL no Departamento de Bioquímica da UFPR, ambos com ionização de eletro-nebulização. As amostras foram solubilizadas em metanol/H<sub>2</sub>O (7:3, v/v) com ácido, e posteriormente submetidas à infusão direta na fonte de ionização com fluxo de 5 mL min<sup>-1</sup>.

Espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) 1D e 2D foram obtidos no Centro de RMN da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em espectrômetros DPX-200, Avance-400 e/ou Avance III 600 (Bruker), operando a 4,7, 9,4 e 14,1 Tesla (T), respectivamente, e observando os núcleos a 200, 400 e 600 MHz para <sup>1</sup>H e 50, 100 e 150 MHz para <sup>13</sup>C. Os experimentos foram conduzidos em solvente deuterado

(CDCl<sub>3</sub>), usando-se TMS (tetrametilsilano) como referência interna. Os dados obtidos foram analisados no *software* TopSpin e comparados com aqueles publicados na literatura.

A estrutura cristalina de **SR8** foi determinada por difratometria de raios X de monocristal. Os dados cristalográficos (intensidades das reflexões) foram obtidos através de um difratômetro automático de raios X para monocristais modelo Bruker D8 Ventura, equipado com detector de área Photon 100 e uma fonte de Cu-K $\alpha$  muS ( $\lambda$  = 1,54178 Å) com monocromador de espelhos Göbbel. Os quadros de imagens foram integrados utilizando o programa Bruker SAINT. A correção da absorção foi realizada utilizando o *software* SADABS e a estrutura foi resolvida e refinada utilizando o *software* Bruker SHELXTL. A coleta de dados foi realizada no Departamento de Química da UFPR, sob a responsabilidade da Professora Dr<sup>a</sup>. Jaísa Fernandes Soares. Os dados foram depositados no Centro de dados cristalográficos de Cambridge (Cambridge Crystallographic Data Centre - CCDC), sob número 1502425.

As geometrias moleculares foram pré-otimizadas empregando-se o método semi-empírico (parametrização PM7) disponível no pacote de programas MOPAC2016 até que a norma do gradiente fosse inferior a 0,05. Em seguida, as geometrias foram otimizadas utilizando-se a Teoria do Funcional de Densidade (DFT), empregando-se o funcional híbrido B3LYP (BECKE, 1993), função de base com potencial efetivo de caroço de Los Alamos (HAY; WADT, 1985). Os espectros vibracionais foram calculados para que fosse certificado que as geometrias moleculares obtidas não se tratavam de estados de transição, pois a presença de vibrações com frequências negativas indica que a estrutura de maior estabilidade não foi obtida. Esta parte foi feita utilizando-se o pacote GAUSSIAN 09 ou GAMESS 2018.

Os cálculos de polarizibilidade foram realizados empregando-se o pacote GAUSSIAN09 seguindo a metodologia descrita por Pedersen e Hansen (1995), sendo que o efeito da presença de solvente foi incluído.

Nas separações cromatográficas em coluna aberta (CC) foi utilizado gel de sílica 60 (Macherey-nagel). Nas análises por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foram utilizadas placas prontas, recobertas com gel de sílica (Macherey-Nagel). As placas para as separações em camada delgada preparativa (CCDP) foram preparadas manualmente em placas de vidro 20 x 20 cm, com uma

espessura de 1,00 mm de gel de sílica 60PF<sub>254</sub> (Macherey-Nagel). As placas foram reveladas com luz UV (254 e 366 nm) e solução etanólica de ácido sulfúrico (5% v/v), seguida de aquecimento. As frações obtidas foram agrupadas por similaridade após análise por CCDA. As frações foram selecionadas para purificação considerando o seu perfil cromatográfico em CCDA e o seu espectro de RMN de <sup>1</sup>H. A amostra foi considerada pura quando apresentou uma única mancha ao ser analisada por CCDA em três eluentes diferentes. Os reagentes e solventes utilizados na cromatografia clássica foram produtos analíticos das marcas Synth ou Vetec.

#### 4.2. MATERIAL VEGETAL

Exemplares de *Sinningia reitzii* (Hoehne) L.E.Skog foram coletados de uma população natural crescendo em Jundiaí do Sul, PR, (23° 26' 45" S, 50° 15' 33" O), sendo a coleta realizada em março/2010. A planta foi identificada pela botânica Clarisse Bolfe Poliquesi, que depositou uma exsicata no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM 253.150). As plantas foram mantidas em cultivo em Curitiba, PR, (25° 26' 34.85" S, 49° 14' 22.58" W) até as coletas. Foram realizadas duas coletas de tubérculos desse material cultivado: em agosto/2012 (material A) e abril/2015 (material B).

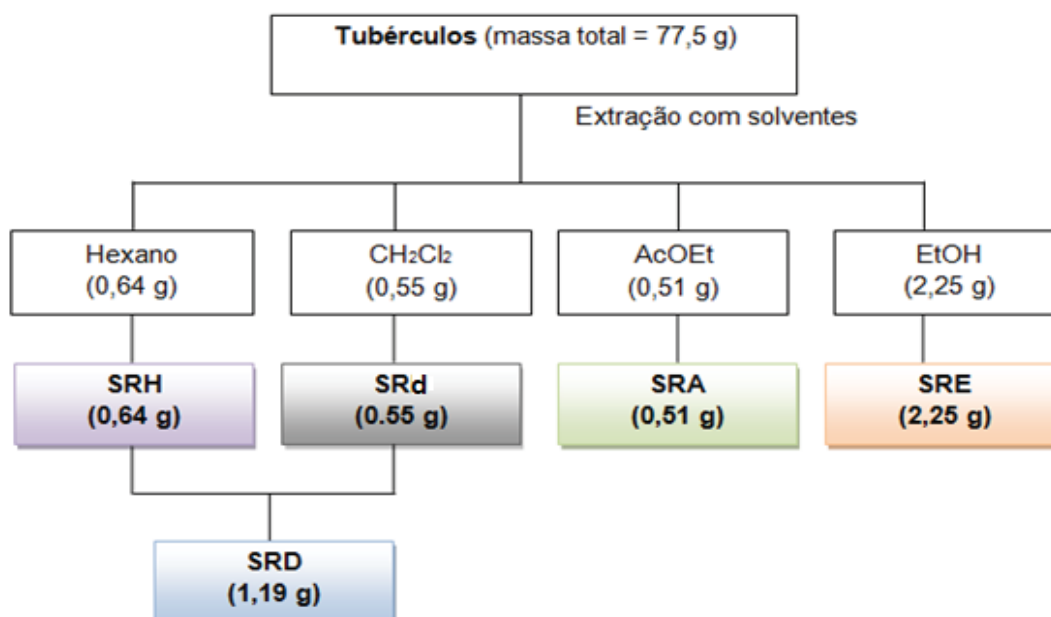
#### 4.3. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Os tubérculos frescos foram fatiados, secados em estufa a 40°C e moídos. Os tubérculos das coletas 1 (material A) e 2 (material B) (Tabela 1) foram extraídos separadamente à temperatura ambiente com solventes em ordem crescente de polaridade: hexano (Hex), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, AcOEt e EtOH. O solvente (500 mL para cada 100 g de material) foi deixado em contato com o material vegetal por 24 h, e então renovado. Foram realizadas três extrações sucessivas com cada solvente. As soluções obtidas para cada material/solvente foram reunidas e o solvente foi removido em evaporador rotativo, fornecendo os extratos em Hex (**SRH**), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (**SRd**), AcOEt (**SRA**) e EtOH (**SRE**) (Tabela 1). Os extratos das duas coletas foram reunidos após análise por CCDA, que mostrou que eram similares entre si. Os extratos **SRH** e **SRD** também foram reunidos e chamados apenas de **SRD**. (Esquema 1). Uma parte desses extratos foi separada para ensaios biológicos.

**TABELA 1-** RENDIMENTO DOS EXTRATOS DOS TUBÉRCULOS DE *S. reitzii*.

Material/extrato	Material A (g)	Material B (g)
Massa fresca	461,8 g	881,9 g
Massa seca	30,9 g	46,6 g
SRH	0,30 g	0,34 g
SRd	0,27 g	0,28 g
SRA	0,25 g	0,26 g
SRE	1,03 g	1,22 g

SHE: extrato em hexano; SRd: extrato em diclorometano; SRA: extrato em acetato de etila; SRE: extrato em etanol.

**ESQUEMA 1.** EXTRAÇÃO DOS TUBÉRCULOS DE *S. reitzii* DAS COLETAS 1 E 2 REUNIDAS.

#### 4.4. ISOLAMENTO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.

##### 4.4.1- Isolamento dos constituintes do extrato SRD

O extrato **SRD** (1,05 g) foi submetido à cromatografia em coluna (CC), eluída com Hex:AcOEt 95:5, Hex:AcOEt 9:1, Hex:AcOEt 8:2, AcOEt e MeOH puros. Foram recolhidas 92 frações de aproximadamente 5 mL, as quais foram agrupadas em 20 frações após comparação por CCDA (Tabela 2).

**TABELA 2-** AGRUPAMENTO DAS FRAÇÕES DA COLUNA DO EXTRATO **SRD**.

Fração	Código	Eluente	Massa (mg)	Fração	Código	Eluente	Massa (mg)
1-10	SRD 10	Hex:AcOEt 95:5	116,1	<b>51-55</b>	<b>SRD 55</b>	<b>Hex:AcOEt 8:2</b>	<b>15,9</b>
11-13	SRD 13	Hex:AcOEt 9:1	15,3	56 - 58	SRD 58	Hex:AcOEt 8:2	22,9
<b>14-15</b>	<b>SRD 15</b>	<b>Hex:AcOEt 9:1</b>	<b>52,2</b>	59-61	SRD 61	Hex:AcOEt 8:2	10,0
<b>16-19</b>	<b>SRD 18</b>	<b>Hex:AcOEt 9:1</b>	<b>127,7</b>	<b>62-67</b>	<b>SRD 67</b>	<b>Hex:AcOEt 8:2</b>	<b>19,1</b>
<b>20-21</b>	<b>SRD 21</b>	<b>Hex:AcOEt 9:1</b>	<b>34,3</b>	68-72	SRD 72	Hex:AcOEt 8:2	42,8
<b>22</b>	<b>SRD 22</b>	<b>Hex:AcOEt 9:1</b>	<b>13,6</b>	<b>73-76</b>	<b>SRD 76</b>	<b>Hex:AcOEt 8:2</b>	<b>44,0</b>
23 – 31	SRD 31	Hex:AcOEt 9:1	41,5	77-79	SRD 79	Hex:AcOEt 8:2	15,5
<b>32 – 38</b>	<b>SRD 38</b>	<b>Hex:AcOEt 8:2</b>	<b>48,7</b>	80-81	SRD 81	AcOEt	164,2
<b>39-42</b>	<b>SRD 42</b>	<b>Hex:AcOEt 8:2</b>	<b>45,7</b>	<b>82</b>	<b>SRD 82</b>	<b>MeOH</b>	<b>163,1</b>
<b>43-50</b>	<b>SRD 50</b>	<b>Hex:AcOEt 8:2</b>	<b>23,3</b>	83-92	SRD 92	MeOH	31,2

A fração SRD 15 (52,2 mg) foi submetida à CCDP, eluída com Hex:acetona 8:2, resultando em SRD 15-B (15,2 mg), que foi novamente purificada por CCDP em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , e recristalizada no mesmo solvente, resultando no isolamento de SRD 15-BB (**SR8**, 9,0 mg).

A fração SRD 21 (34,3 mg) foi submetida à CCDP, eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 99:1, resultando em SRD 21-A (8,2 mg) e SRD 21-B (**SR1**, 2,1 mg). A fração SRD 21-A foi purificada duas vezes por CCDP, sendo a primeira eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 9:1 e a segunda com hexano:éter etílico 1:1, resultando no isolamento de SRD 21-ACA (**SR10**, 6,0 mg).

A fração SRD 22 (13,6 mg) foi submetida à CCDP, eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , resultando em SRD 22-A (6,0 mg), SRD 22-C (**SR2**, 2,0 mg) e SRD 22-D (**SR11**, 2,3 mg). SRD 22-A foi purificada por CCDP em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 99:1, resultando em SRD 22-AA (3,2 mg, **SR10**).

A fração SRD 38 (48,7 mg) foi submetida à CC, eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , misturas de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH (99:1; 95:5; 9:1; 8:2) e finalmente MeOH, resultando em 45 subfrações, que foram agrupadas em 5 (Tabela 3).

**TABELA 3-** AGRUPAMENTO DAS SUBFRAÇÕES RESULTANTES DO FRACIONAMENTO DE **SRD 38**.

Subfração	Código	Eluente	Massa (mg)
1-2	SRD 38-2	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	18,5
3-17	SRD 38-17	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 99:1	7,1
18-22	SRD 38-22	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 9:1	7,8
23-36	SRD 38-36	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 8:2	6,8
37-45	SRD 38-45	MeOH	1,9

A subfração SRD 38-2 (18,5 mg) foi purificada duas vezes por CCDP, eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 9:1, resultando no isolamento de SRD 38-2AA (**SR3**, 0,2 mg) e SRD 38-2AB (**SR12**, 1,2 mg).

A fração SRD 50 (23,3 mg) foi submetida à CCDP, eluída com Hex:AcOEt 1:1, resultando em SRD 50-A (11,4 mg), que foi purificada por CCDP, eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 99:1, resultando no isolamento de SRD 50-AA (**SR9**, 1,9 mg) e SRD 50-AD (7,6 mg, **SR13**).

A fração SRD 67 (19,1 mg) foi submetida à CCDP, eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH

99:1, rendendo SRD 67-D (8,9 mg, **SR4**) e SRD 67-E (3,1 mg), a qual foi purificada por CCDP no mesmo sistema de eluição anterior, resultando no isolamento de SRD 67-EB (**SR13**, 1,9 mg).

A fração SRD 76 (44,0 mg) foi submetida à CCDP, eluída com Hex:AcOEt 1:1, rendendo SRD 76-C (**SR4**, 6,6 mg).

A fração SRD 82 (163,1 mg) foi submetida à CC, eluída com misturas de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (95:5; 9:1; 8:2, 7:3, 6:4), AcOEt e finalmente MeOH, resultando em 56 subfrações, que foram agrupadas em 13 (Tabela 4).

**TABELA 4-** AGRUPAMENTO DAS SUBFRAÇÕES RESULTANTES DO FRACIONAMENTO DE **SRD 82**.

Sub Fração	Código	Eluente	Massa (mg)	Sub fração	Código	Eluente	Massa (mg)
1	SRD82-1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :AcOEt 95:5	12,1	27-33	<b>SRD 82-33</b>	<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 9:1</b>	<b>5,2</b>
2	<b>SRD82-2</b>	<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 95:5</b>	<b>0,7</b>	34	SRD82-34	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :AcOEt 9:1	0,7
3-11	<b>SRD82-11</b>	<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 95:5</b>	<b>11,6</b>	35-53	<b>SRD82-53</b>	<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 7:3</b>	<b>15,6</b>
12-14	<b>SRD82-14</b>	<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 95:5</b>	<b>4,3</b>	54	SRD82-54	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :AcOEt 6:4	30,0
15-20	<b>SRD 82-20</b>	<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 95:5</b>	<b>5,8</b>	55	SRD82-55	AcOEt	2,7
21-25	SRD82-25	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :AcOEt 95:5	9,1	56	SRD82-56	MeOH	41,0
26	SRD82-26	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :AcOEt 9:1	1,2				

A subfração SRD 82-2 continha **SR4** (0,7 mg).

A subfração SRD 82-11 (11,6 mg) foi purificada por CCDP, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOEt 95:5, rendendo SRD 82-11A (6,8 mg, **SR5**) e SRD 82-11B (1,0 mg, **SR4**).

A subfração SRD 82-14 (4,3 mg) foi purificada por CCDP, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOEt 95:5, resultando no isolamento de SRD 82-14 (**SR5**, 4,0 mg).

A subfração SRD 82-20 (5,8 mg) foi purificada por CCDP, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOEt 95:5, resultando no isolamento de SRD 82-20C (1,0 mg, **SR5**).

A subfração SRD 82-33 (5,2 mg) foi purificada por CCDP, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt 9:1, resultando no isolamento de SRD 82-33 (**SR6**, 5,0 mg).

A subfração SRD 82-53 (15,6 mg) foi submetida à CCDP, eluída com Hex: AcOEt 1:1, resultando no isolamento de SRD 82-53C (**SR7**, 3,7 mg).

As demais subfrações foram estudadas, resultando em compostos alifáticos de cadeia longa, os quais foram descartados.

#### 4.4.2. Isolamento dos constituintes do extrato SRA

Parte do extrato **SRA** (356,5 mg) foi submetido à CC, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH95:5, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH9:1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 8:2, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 7:3, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 1:1 e MeOH. Foram recolhidas 86 frações de aproximadamente 5 mL, as quais foram agrupadas em 9 frações após comparação por CCDA (Tabela 5).

A fração SRA 34 (12,0 mg) foi purificada por CCDP, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 99:1, resultando no isolamento de SRA 34-C (2,2 mg, **SR4** + **SR5**) e SRA 34-D (1,6 mg, **SR4**).

A fração SRA 36 (39,6 mg) foi purificada por CCDP, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 95:5, resultando na obtenção de SRA 36-F (1,6 mg, **SR5**).

As demais frações não forneceram nenhuma substância pura.



**TABELA 5-** AGRUPAMENTO DAS FRAÇÕES RESULTANTES DO FRACIONAMENTO DE **SRA**.

Fração	Código	Eluente	Massa (mg)	Fração	Código	Eluente	Massa (mg)
1	SRA 1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	38,2	44-45	SRA 45	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 8:2	31,7
2-34	SRA 34	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> e CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH (95:5, 9:1)	12,0	46-49	SRA 49	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 8:2	12,9
35-36	SRA 36	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 9:1	39,3	50-86	SRD 86	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH (8:2; 7:3; 1:1) e MeOH	63,5
37-38	SRA 38	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 9:1	7,6	44-45	SRA 45	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 8:2	31,7
39-43	SRA 43	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH 9:1	27,1				

#### 4.5. ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os ensaios biológicos foram realizados pelo Dr. Marcos José Salvador, do Instituto de Biologia da UNICAMP.

##### 4.5.1. Avaliação da atividade citotóxica

Para a realização da atividade citotóxica foram utilizadas as linhagens de células tumorais PC-3 (próstata humano metastático andrógeno-independente), SKMEL 103 (melanoma humano metastático) e HeLa (carcinoma epitelóide do colo do útero) e a linhagem controle, de célula não tumoral 3T3 (linhagem de fibroblastos).

O ensaio foi realizado de acordo com o procedimento descrito em MOSMANN, (1983) e PASCOAL et al., (2011). As linhagens de células tipo ATCC (American Type Culture Collection) foram distribuídas em placas de 96 poços (100 µL célula/poço) e tratadas com quatro níveis diferentes de concentração 0,25; 2,5; 25,0 e 250,0 µg mL<sup>-1</sup> dos extratos. Foi adicionado o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) (0,1%) a 37 °C, com 5% de CO<sub>2</sub> por 48 h. A concentração final de DMSO

não afeta a viabilidade da célula. Doxorrubicina (0,025, 0,25, 2,5 e 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi usado como controle positivo e o DMSO como controle negativo. A proliferação das células tumorais foi quantificada pela capacidade das células vivas de reduzir o corante amarelo Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio (MTT) a um produto azul de formazan. Após incubação de 48 h o meio foi substituído por um meio fresco contendo 0,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de MTT. Após três h, o produto formazan foi dissolvido em DMSO e a densidade óptica foi medida por espectrofotometria a 570 nm (Synergy 2, Bio-Tek, Winooski, VT). Os experimentos foram feitos pelo menos em triplicata e a concentração necessária para atingir 50% da inibição da viabilidade celular ( $\text{IC}_{50}$ ) foi calculada em  $\mu\text{mol L}^{-1}$  por regressão não-linear usando o programa GRAPHPAD 5.0 (Intuitive Software for Science, San Diego, CA, 2007). Este ensaio foi realizado com os extratos **SRH**, **SRd**, **SRA** e **SRE** e com as substâncias **SR1**, **SR2**, **SR4** e **SR8**.

#### 4.5.2. Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos **SRH**, **SRd**, **SRA** e **SRE** foi investigada frente ao método ORAC-FL (Capacidade de absorção dos radicais oxigenados, com fluoresceína como a sonda fluorescente), usando AAPH [dicloreto de 2,2'-azobis-(2-amidinopropano)] como fonte de radicais livres (PRIOR et al., 2003). Os experimentos foram realizados em placas de 96 poços conforme descrito anteriormente (SALVADOR et al., 2006). Foram preparadas soluções-estoque dos extratos (50 mg  $\text{mL}^{-1}$ ) em tampão fosfato/DMSO (99:1). A partir da solução-estoque várias diluições foram preparadas (5-500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) em tampão de fosfato. Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) foi usado como um padrão, sendo analisado em concentrações de 12,5, 25, 50, 100 e 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . A leitura foi realizada usando um filtro fluorescente (excitação  $\lambda = 485$  nm e emissão  $\lambda = 528$  nm) em um leitor de microplacas, monitorando a reação a 37 °C a cada 2 min. por um período de 70 min. Foram utilizados o ácido cafeico, o ácido clorogênico, quercetina e isoquercetina como controles positivos e, como controle negativo foi utilizado o solvente. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de Trolox equivalente (TE) por grama de extrato ( $\mu\text{mol TE/g}$ ). Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

#### 4.5.3. Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos **SRH**, **SRd**, **SRA** e **SRE** foi avaliada através da técnica de microdiluição, de acordo com a metodologia previamente reportada (SALVADOR et al., 2002). Os microrganismos utilizados foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 14458, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida dubliniensis* ATCC 778157 e *Candida glabrata* ATCC 30070). Os extratos foram avaliados em concentrações variando entre 12,5 - 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , e a concentração mínima para inibir o crescimento (concentração inibitória mínima - CIM) foi determinada. Nestes ensaios foram utilizados como controles positivos cloranfenicol para bacterianas e cetoconazol para fungos, e como controle negativo utilizou-se DMSO/água esterilizada (5:95 v/v). Os bioensaios foram realizados pelo menos em duplicata.

#### 4.6. DADOS FÍSICOS, ESPECTROSCÓPICOS E ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS.

##### SR1

**8-Hidroxi-6,7-dimetoxi- $\alpha$ -dunniona**: Sólido alaranjado; Massa obtida = 2,1 mg; Fórmula molecular:  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$ , massa calculada 258,08615;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -78 (c 0,25,  $\text{CHCl}_3$ ), calculado por DFT -234. lit. 0 (racemato) (INOUE et al., 1983); UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}(\log \epsilon)$ : 257 (3,76), 292 (3,32), 411 (3,09) nm (FIGURA 19, p. 65); IV (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3436, 2922, 2856, 1734, 1635, 1612, 1589, 1453, 1156, 1036  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 20, p. 67); RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 21-24 (p. 67-69), TABELA 6 (p. 66).

##### SR2

**5-Hidroxi-6,7-dimetoxi- $\alpha$ -dunniona**: Sólido alaranjado; Massa obtida = 2,0 mg; EM-AR:  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_6$ : 319,11817, encontrado: 319,11705 (FIGURA 26, p. 72);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -13 (c 0,03, MeOH), calculado por DFT -317; UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}(\log \epsilon)$ : 212 (3,67), 263 (3,29), 330 (2,80) nm (FIGURA 27, p. 71); IV (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3436, 2922, 1734, 1630, 1135  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 28, p. 73); RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 29-32, (p. 73-75), TABELA 7 (p. 71).

**SR3**

**7-Hidroxi- $\alpha$ -dunniona:** Sólido amarelo; Massa obtida = 0,2 mg; Fórmula molecular:  $C_{15}H_{14}O_4$ , massa calculada 258,08615;  $[\alpha]_D^{20}$  -232 (c 0,066,  $CHCl_3$ ), calculado por DFT -109, lit. -133 (CAI et al, 2005); RMN de  $^1H$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 34-36 (p.77-78), TABELA 8 (p. 77).

**SR4**

**6,7-Dimetoxidunniona:** Sólido roxo escuro; Massa obtida = 17,2 mg; EM-AR:  $m/z$   $[M+H]^+$  calculado para  $C_{17}H_{19}O_5$ : 303,12349, encontrado: 303,12299 (FIGURA 38, p. 81);  $[\alpha]_D^{20}$  -228 (c 0,27,  $CHCl_3$ ), calculado por DFT -268; UV-Vis (MeOH)  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$ : 214 (3,99), 280 (3,95); 332 (3,32) nm (FIGURA 39, p. 80); IV (KBr)  $\nu_{max}$ : 2922, 2840, 1640, 1600, 1560, 1520, 1270, 1161, 1022  $cm^{-1}$  (FIGURA 40, p. 82); RMN de  $^1H$ ,  $^{13}C$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 41-44 (p. 82-84), TABELA 9 (p. 80).

**SR5**

**5-Hidroxi-6,7-dimetoxidunniona:** Sólido roxo; Massa obtida = 11,8 mg; EM-AR:  $m/z$   $[M+H]^+$  calculado para  $C_{17}H_{19}O_6$ : 319,11816, encontrado: 319,11847 (FIGURA 46, p. 87);  $[\alpha]_D^{20}$  -146 (c 0,21,  $CHCl_3$ ), calculado por DFT -440; UV-Vis (MeOH)  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$ : 212 (4.30), 267 (4.03), 300 (3.91) (FIGURA 47, p. 87); IR (KBr)  $\nu_{max}$ : 3421, 2958, 2927, 2848, 1643, 1604, 1585, 1260  $cm^{-1}$  (FIGURA 48, p. 88); RMN de  $^1H$ ,  $^{13}C$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 49-52 (p. 88-90), TABELA 10 (p. 86).

**SR6**

**7-Hidroxi-6-metoxidunniona:** Sólido roxo; Massa obtida = 5,0 mg; EM-AR:  $m/z$   $[M+H]^+$  calculado para  $C_{16}H_{17}O_5$ : 289,10760, encontrado: 289,10808 (FIGURA 54, p. 93);  $[\alpha]_D^{20}$  -79 (c 1,0,  $CHCl_3$ ), calculado por DFT -224; UV-Vis (MeOH)  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$ : 211 (4,07), 277 (4.01), 283 (4.02), 316 (3.62) nm (FIGURA 55, p. 92); IV (KBr)  $\nu_{max}$ : 3539, 3431, 2916, 2848, 1629, 1607, 1576, 1529, 1274  $cm^{-1}$  (FIGURA 56, p. 94); RMN de  $^1H$ ,  $^{13}C$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 57-60 (p. 94-96), TABELA 11 (p. 92).

**SR7**

**7-Hidroxidunniona:** Sólido roxo; Massa obtida = 3,7 mg; Fórmula molecular:  $C_{15}H_{14}O_4$ , massa calculada 258,08615;  $[\alpha]_D^{25}$  -23 (c 0,75,  $CHCl_3$ ), calculado por

DFT -260, lit. -350 (INOUE et al., 1983); UV-Vis (MeOH)  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ : 276 (3,82), 297 (3,51) nm (FIGURA 62, p. 99); RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 63-66 (p. 99-101), TABELA 12 (p. 98).

### SR8

**8-Hidroxideiidrodunniona:** Sólido alaranjado; Massa obtida = 9,0 mg; EM-AR:  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_4$ : 257,08139, encontrado: 257,08077 (FIGURA 73, p.111); UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ : 213 (4,51); 257 (4,19); 416 (3,64) nm (FIGURA 74, p. 112); IV (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3426, 3074, 2925, 1734, 1617, 1122, 891  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 75, p. 112); RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC E HMBC: FIGURAS 76-82 (p. 113-116), TABELA 14 (p. 110).

### SR9

**7-Hidroxideiidrodunniona:** Sólido roxo; Massa obtida = 1,9 mg; EM-AR:  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_4$ : 257,08139, encontrado: 257,08023 (FIGURA 84, p. 119); UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ : 218 (3,66); 277 (3,58), 499 (2,44) nm (FIGURA 85, p. 119); IV (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3131, 2922, 1734, 1639, 1175, 900, 833  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 86, p. 120); RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 87-93 (p. 120-123); TABELA 15 (p. 118).

### SR10

**6,8-Diidroxi-7-metoxi-2-O-metildunniol:** Sólido amarelo; Massa obtida = 9,2 mg; Fórmula molecular:  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6$ , massa calculada 318,11034; UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ : 214 (4,29); 269 (4,00), 295 (3,83), 417 (3,25) nm (FIGURA 96, p. 127); IV (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3461, 2931, 2850, 1732, 1624, 1567, 1453, 1373, 1270, 1207, 1122  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 97, p. 127); RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 98-101 (p. 128-129), TABELA 16 (p. 126).

### SR11

**5-Hidroxi-6,7-dimetoxidunniol:** Sólido amarelo; Massa obtida = 2,3 mg; EM-AR:  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_6$ : 319,11817, encontrado: 319,11705 (FIGURA 103, p. 132); UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\max}(\log \epsilon)$ : 219 (3,71); 263 (3,54) nm (FIGURA 104, p. 132); IV (KBr)  $\nu_{\max}$ : 3414, 2918, 1734, 1630, 1122  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 105, p. 133);

RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 106-112 (p. 133-136), TABELA 17 (p. 131).

## SR12

**6-Hidroxi-7,8-dimetoxi-2-O-metildunniol:** Sólido amarelo; Massa obtida = 1,2 mg; Fórmula molecular:  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6$ , massa calculada 332,12599; UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}(\log \epsilon)$ : 214 (3,82), 274 (3,52), 298 (3,28) nm (FIGURA 114, p. 139); IV (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3415, 2925, 2862, 1738, 1641, 1572, 1459, 1390  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 115, p. 140); RMN de  $^1\text{H}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 116-118 (p.140-141), TABELA 18 (p. 138).

## SR13

**8-Hidroxi-7-metoxi-2-O-metilstreptocarpona:** Sólido alaranjado; Massa obtida = 9,5 mg; EM-AR:  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_6$  319,11817, encontrado: 319.11704 (FIGURA 122, p. 145); UV-vis (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}(\log \epsilon)$ : 217 (3,70); 268 (3,36) nm (FIGURA 123, p. 145); IV (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3423, 3138, 2918, 1725, 1630, 1265  $\text{cm}^{-1}$  (FIGURA 124, p. 146); RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC: FIGURAS 125-128 (p. 146-148), TABELA 19 (p. 144).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

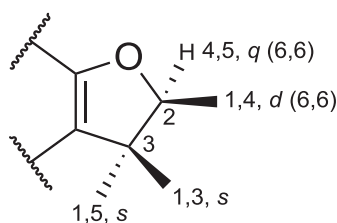
O fracionamento cromatográfico da reunião dos extratos em hexano e diclorometano dos tubérculos de *S. reitzii* resultou no isolamento e identificação de 13 naftoquinonas, denominadas **SR1**, **SR2**, **SR3**, **SR4**, **SR5**, **SR6**, **SR7**, **SR8**, **SR9**, **SR10**, **SR11**, **SR12**, e **SR13**. A identificação foi realizada utilizando técnicas espectrométricas, incluindo espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear (RMN) 1D e 2D, além de comparação com dados da literatura.

Todas as naftoquinonas isoladas eram preniladas, ou seja, continham um substituinte alifático com cinco carbonos, derivado do grupo prenila. Estes substituintes eram de quatro tipos: 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano, 3,3-dimetil-2-metileno-2,3-diidrofurano, 3,3-dimetilalila, e 1,1-dimetil-2-oxopropila. As substâncias de cada tipo serão apresentadas a seguir.

### 5.1. NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 2,3,3-TRIMETIL-2,3-DIIDROFURANO

O grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano pode ser caracterizado através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  pelos sinais dos grupos metila, sendo dois simpletos em torno de  $\delta_{\text{H}}$  1,5 e 1,3, e um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  1,4, juntamente com o sinal do hidrogênio oximetínico ao redor de  $\delta_{\text{H}}$  4,5 como um quarteto. Os grupos metila que estão do mesmo lado são observados em  $\delta_{\text{H}}$  1,3 e 1,4 (Figura 16).

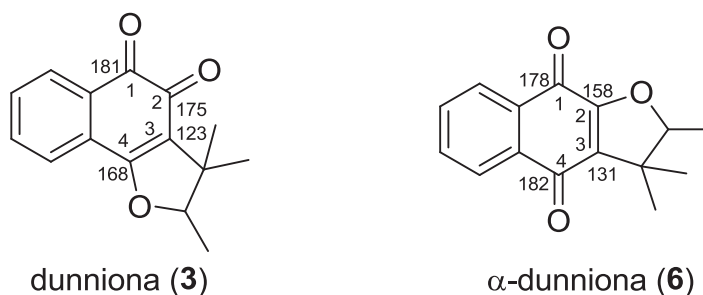
**FIGURA 16-** ESTRUTURA DO GRUPO 2,3,3-TRIMETIL-2,3-DIIDROFURANO, COM OS DESLOCAMENTOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (INOUE et al., 1982).



São conhecidas várias naftoquinonas com o grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano. As mais simples são a dunniona (**3**) e a  $\alpha$ -dunniona (**6**). A diferença entre elas está na posição dos grupos carbonila, e do grupo alifático. Esses dois tipos apresentam dados de RMN de  $^1\text{H}$  muito semelhantes entre si, mas podem ser

distinguidos pelos deslocamentos químicos dos carbonos C-1, C-2, C-3 e C-4 no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Na dunniona o grupo carbonila em C-1 é observado em torno de  $\delta_{\text{C}}$  181, enquanto o grupo carbonila em C-2 está mais protegido de cerca de 6 ppm. Os carbonos C-3 e C-4 são observados em torno de  $\delta_{\text{C}}$  123 e 168, respectivamente. Por outro lado, na  $\alpha$ -dunniona os grupos carbonila são observados ao redor de  $\delta_{\text{C}}$  178 (C-1) e 182 (C-4), enquanto que C-2 e C-3 estão em torno de  $\delta_{\text{C}}$  158 e 131, respectivamente (INOUE et al., 1982) (Figura 17).

**FIGURA 17-** ESTRUTURA DA DUNNIONA E DA  $\alpha$ -DUNNIONA, COM OS DESLOCAMENTOS QUÍMICOS TÍPICOS DOS CARBONOS C1-C4 (INOUE et al., 1982).



Neste trabalho foram isoladas sete naftoquinonas com o grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano: **SR1-SR7**, sendo cinco derivadas da dunniona (**SR1**, **SR4-SR7**) e duas derivadas da  $\alpha$ -dunniona (**SR2** e **SR3**). As substâncias **SR2**, **SR4**, **SR5**, e **SR6** eram inéditas na literatura.

#### 5.1.1- Determinação estrutural de **SR1**

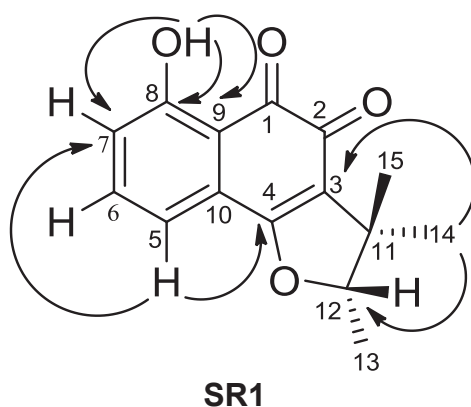
A substância **SR1** foi isolada como um sólido alaranjado. O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 257 nm, característica de cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 19; p. 66). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou duas bandas de absorção em 1621 e 1641  $\text{cm}^{-1}$ , que podem corresponder a grupos carbonilas  $\alpha,\beta$ -insaturados, além de uma banda larga em 3436  $\text{cm}^{-1}$ , típica de hidroxila em ligação intramolecular de hidrogênio, (Figura 20; p. 67).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **SR1** (TABELA 6; p. 66; FIGURA 21; p. 67) foram



observados três sinais de hidrogênios aromáticos, com multiplicidades e constantes de acoplamento características de um anel aromático, 1,2,3 trissubstituído ( $\delta_H$  7,10, 7,19 e 7,53), e um simpleto em  $\delta_H$  11,92, indicando a existência de uma hidroxila em ligação de hidrogênio intramolecular. O seu espectro de RMN de  $^{13}C$  mostrou 15 átomos de carbono, entre os quais estavam dois grupos carbonila ( $\delta_C$  174,9 e 185,5), e um carbono quaternário em  $\delta_C$  167,7, indicando uma 1,2-naftoquinona do tipo dunniona (Figura 22; p. 68). Nos mapas de correlação a uma ligação (HSQC, Figura 23; p. 69) e a longa distância (HMBC, Figura 24; p. 69), foi possível verificar as principais correlações. No HMBC foram observadas correlações entre o H-5 ( $\delta_H$  7,19) e C-4 ( $\delta_C$  167,7), C-7 ( $\delta_C$  122,9) e C-9 ( $\delta_C$  113,5); entre H-6 ( $\delta_H$  7,53) e C-8 ( $\delta_C$  164,3) e C-10 ( $\delta_C$  127,7); entre o grupo hidroxila ( $\delta_H$  11,92) e C-7, C-8 e C-9. O grupo 2,3,3-dimetil-2,3-diidrofurano foi confirmado pelas correlações entre H-14 e H-15 ( $\delta_H$  1,26 e 1,44) e C-3 ( $\delta_C$  123,3) e C-12 ( $\delta_C$  92,8). Como no esqueleto da dunniona a hidroxila em ligação de hidrogênio intramolecular só pode estar na posição 8, essa substância foi identificada como 8-hidroxiidunniona, uma naftoquinona conhecida, previamente isolada *Streptocarpus dunnii* (INOUE et al., 1982) e, de *Sinningia allagophylla* (SCHARF et al., 2016).

**FIGURA 18-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR1**.



**TABELA 6** – DADOS DE RMN DE **SR1** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA **8-HIDROXIDUNNIONA** (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz, DUCHOWICZ et al., 2014).

Posição	SR1			8-hidroxiidunniona	
	$\delta_H$ (mult., J em Hz)	$\delta_C$	$^L J_{H,C}$	$\delta_H$ (mult., J em Hz)	$\delta_C$
1		185,5			185,5
2		174,9			174,9
3		123,3			123,3
4		167,7			167,7
5	7,19 (dd, 7,3; 0,5)	117,4	4, 7, 9	7,19 (dd, 7,3; 1,0)	117,4
6	7,53 (dd, 8,6; 7,3)	137,5	8, 10	7,53 (dd, 8,6; 7,3)	137,5
7	7,10 (dd, 8,6; 0,5)	122,9	5, 9	7,10 (dd, 8,6; 1,0)	122,9
8		164,3			164,3
9		113,5			113,5
10		127,7			127,7
11		44,1			44,1
12	4,64 (q, 6,6)	92,8	14, 15	4,65 (q, 6,7)	92,8
13	1,46 (d, 6,6)	14,5	11, 12	1,46 (d, 6,7)	14,5
14	1,26 (s)	20,3	3, 12, 15	1,26 (s)	20,3
15	1,44 (s)	25,7	3, 12, 14	1,44 (s)	25,7
OH	11,92 (s)		7, 8, 9	11,93	

**FIGURA 19**- ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR1**.

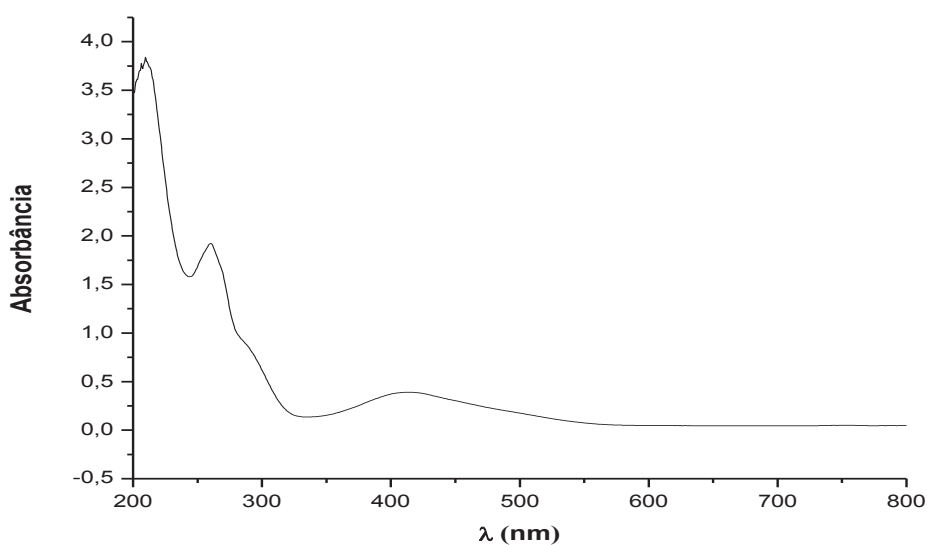
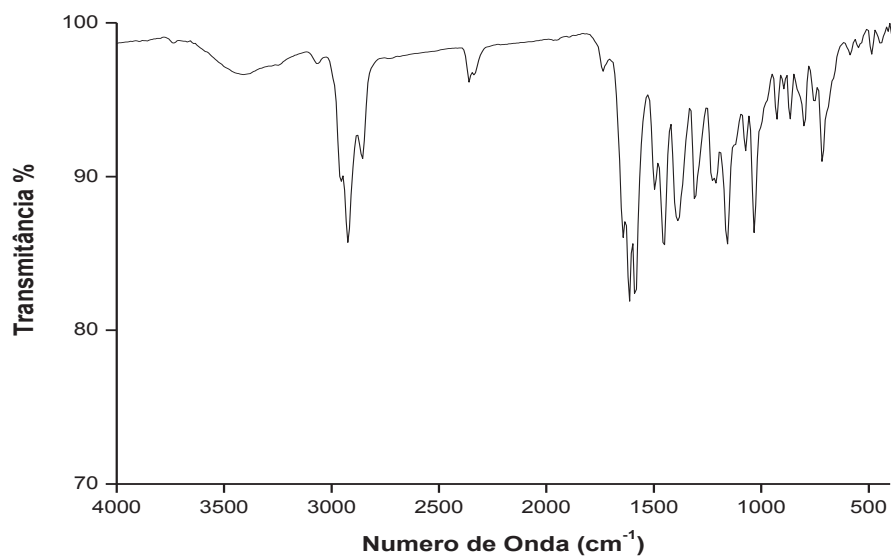
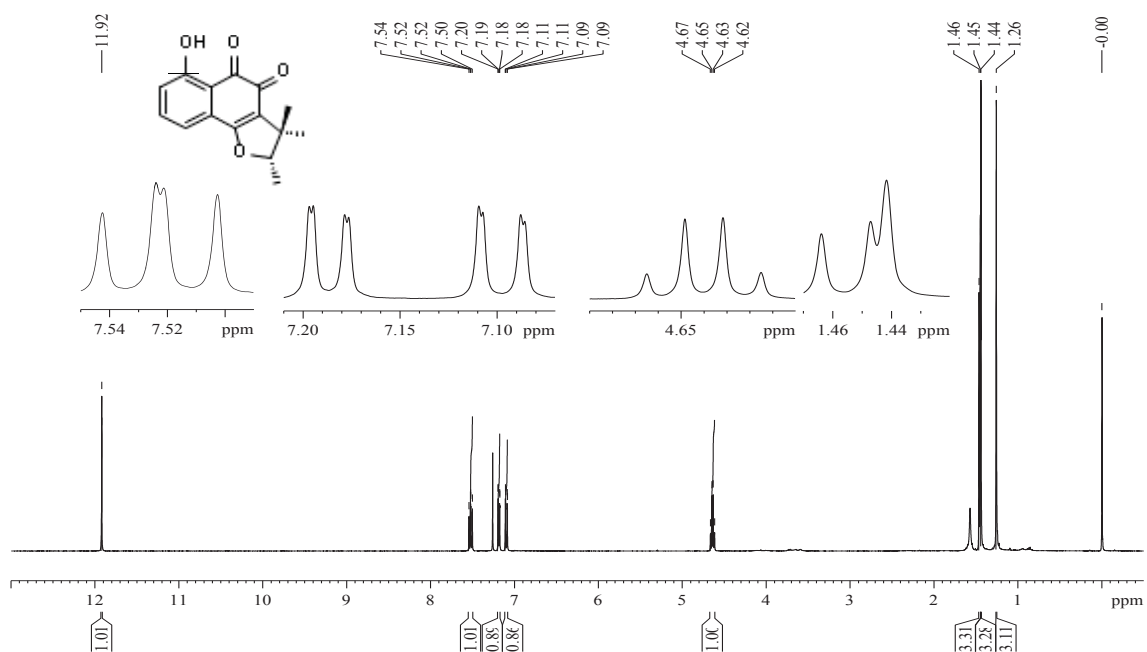
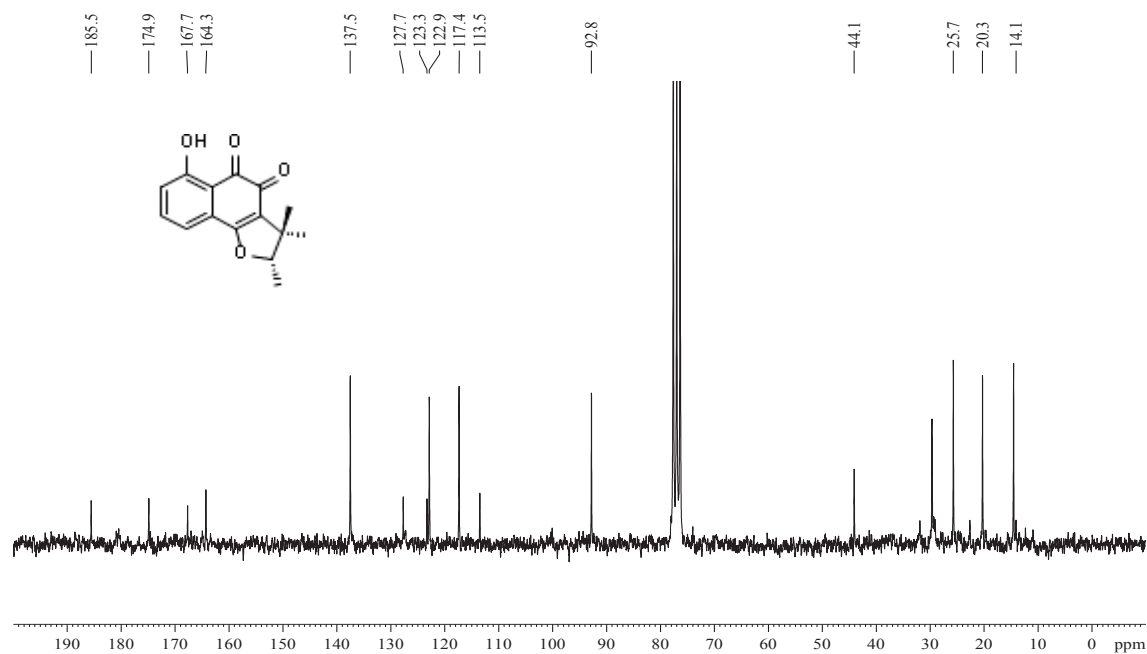


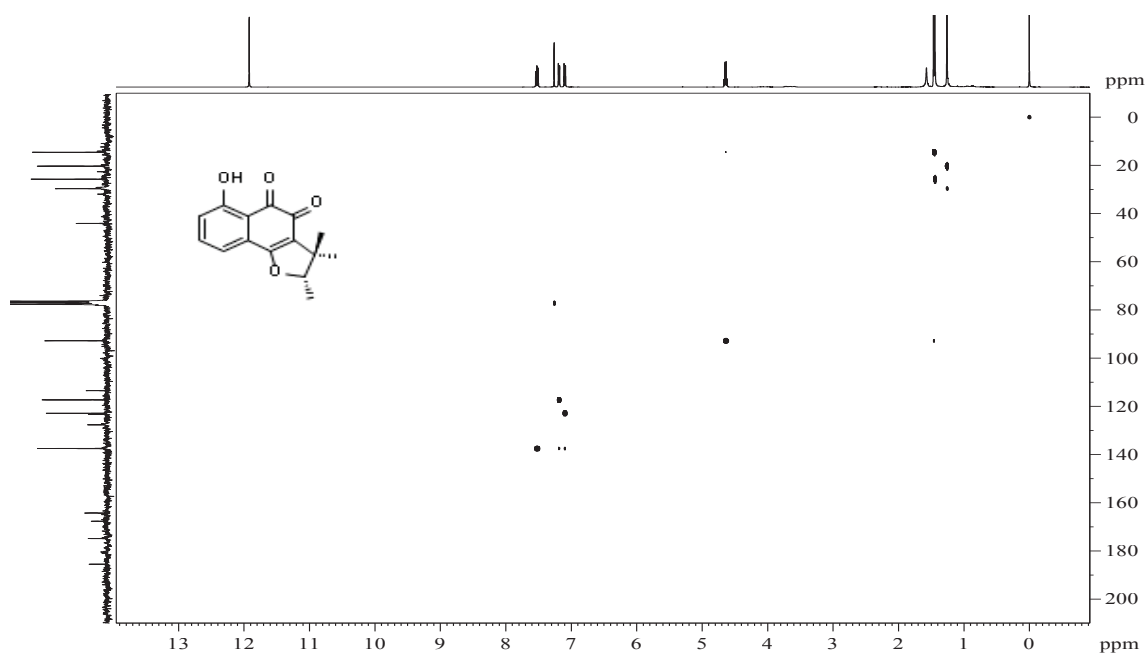
FIGURA 20- ESPECTRO NO IV DE SR1.

FIGURA 21 – ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE SR1 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

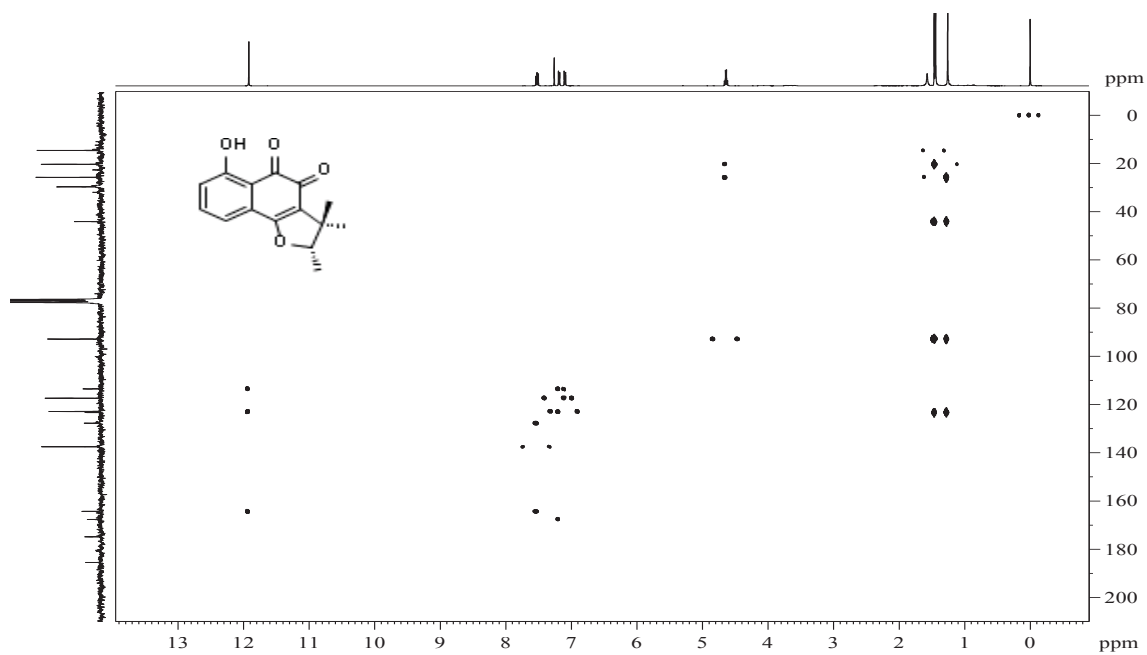
**FIGURA 22** – ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR1** ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz).



**FIGURA 23** – MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR1** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



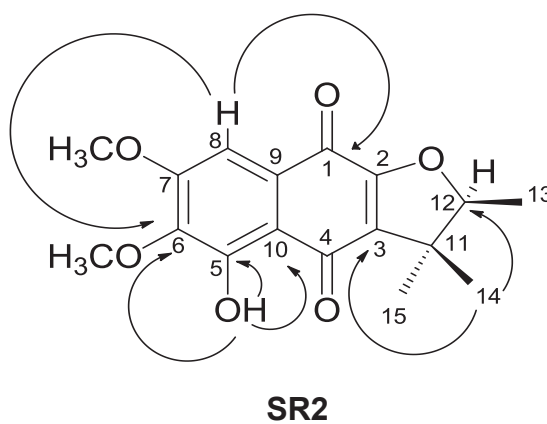
**FIGURA 24** – MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR1** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



### 5.1.2- Determinação estrutural de **SR2**

A substância **SR2** foi isolada como um sólido alaranjado. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 319,11714  $[M + H]^+$ , indicando que a sua fórmula molecular era  $C_{17}H_{18}O_6$  (Figura 26; p. 72). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 263 nm, característica de cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 27; p. 72). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou uma banda de absorção em  $1628\text{ cm}^{-1}$  característica dos grupos carbonila da quinona, e uma banda larga em  $3416\text{ cm}^{-1}$  típica de hidroxila em ligação intramolecular de hidrogênio (Figura 28; p. 73).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **SR2** (Tabela 7; p. 71, Figura 29; p. 73) foi observado apenas um sinal de hidrogênio em  $\delta_H$  7,26, indicando um anel aromático pentassubstituído. Também foram observados três simpletos em  $\delta_H$  12,57, 3,99 e 3,98, sendo o primeiro, típico de uma hidroxila em ligação de hidrogênio e os outros dois de metoxilas. Os sinais de um grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano (dois simpletos em  $\delta_H$  1,48 e 1,29; um duplete em  $\delta_H$  1,44; um quarteto em  $\delta_H$  4,59) também estavam presentes. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 30; p. 74) foi possível observar dois sinais mais intensos em  $\delta_C$  177,4 e 188,3. O primeiro valor é típico de C-1 em 1,4-naftoquinonas, portanto a hidroxila deve estar em C-5. Essa substituição é coerente com o valor observado para o outro grupo carbonila ( $\delta_C$  188,3), pois quando há interação por ligação de hidrogênio com um grupo hidroxila, o deslocamento químico do grupo carbonila é aumentado em cerca de 5ppm (INOUE et al., 1982). Em consequência, os dois grupos metoxila devem estar em C-6 e C-7. A análise dos mapas de correlação a uma ligação (HSQC, Figura 31; p. 71) e a longa distância (HMBC, Figura 32; p. 72) confirmou a estrutura de **SR2** como 5-hidroxi-6,7-dimetoxi- $\alpha$ -dunniona, uma naftoquinona que era inédita na literatura. As correlações mais importantes foram observadas no HMBC entre H-8 ( $\delta_H$  7,26) e C-1 ( $\delta_C$  177,4), C-6 ( $\delta_C$  142,7) e C-10 ( $\delta_C$  111,2); entre o grupo hidroxila ( $\delta_H$  12,57) e C-5 ( $\delta_C$  155,7), C-6 ( $\delta_C$  142,7) e C-10; e entre H-14 e H-15 ( $\delta_H$  1,29 e 1,48) com C-3 ( $\delta_C$  130,3).

**FIGURA 25-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR2**.**TABELA 7-** DADOS DE RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) DE **SR2**.

Posição	SR2		
	$\delta_H$ (mult., $J$ em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$
1	-	177,4	
2	-	159,1	
3	-	130,3	
4	-	188,3	
5	-	155,7	
6	-	142,7	
7	-	156,5	
8	7,26 (s)	104,3	1, 6, 10
9	-	127,0	
10	-	111,2	
11	-	45,1	
12	4,59 (q, 6,6)	92,1	15
13	1,44 (d, 6,6)	14,2	11, 12
14	1,29 (s)	20,7	3, 11, 12, 15
15	1,48 (s)	25,9	3, 11, 12, 14
OH	12,57 (s)	-	5, 6, 10
6-OCH <sub>3</sub>	3,99 (s)	61,1	6
7-OCH <sub>3</sub>	3,98 (s)	56,5	7

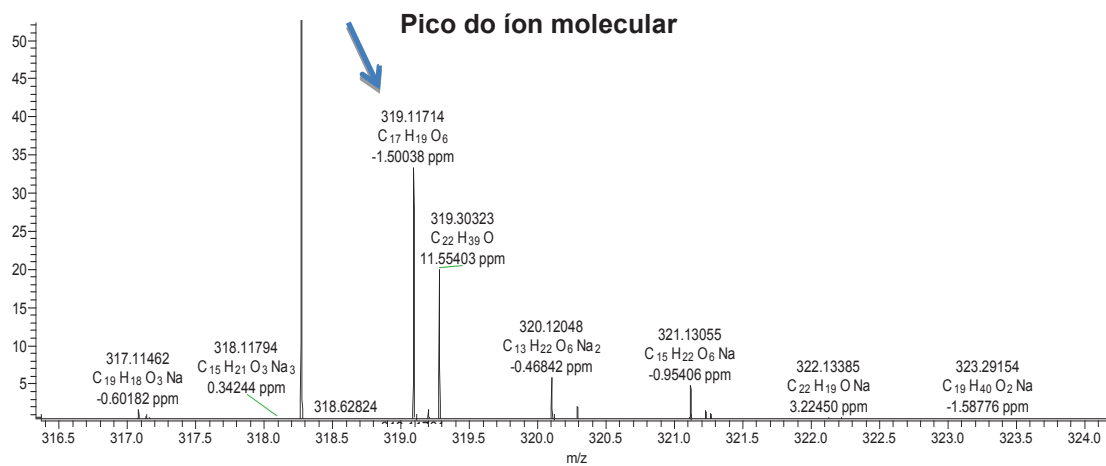
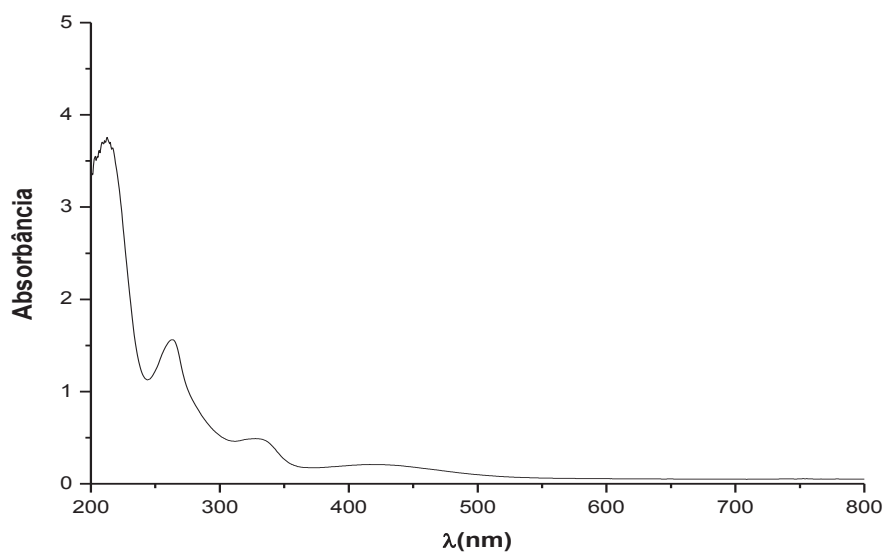
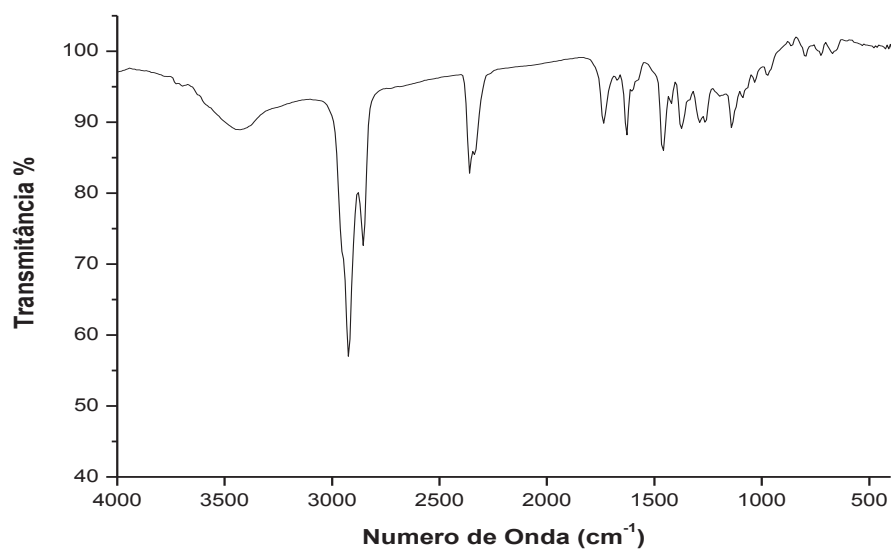
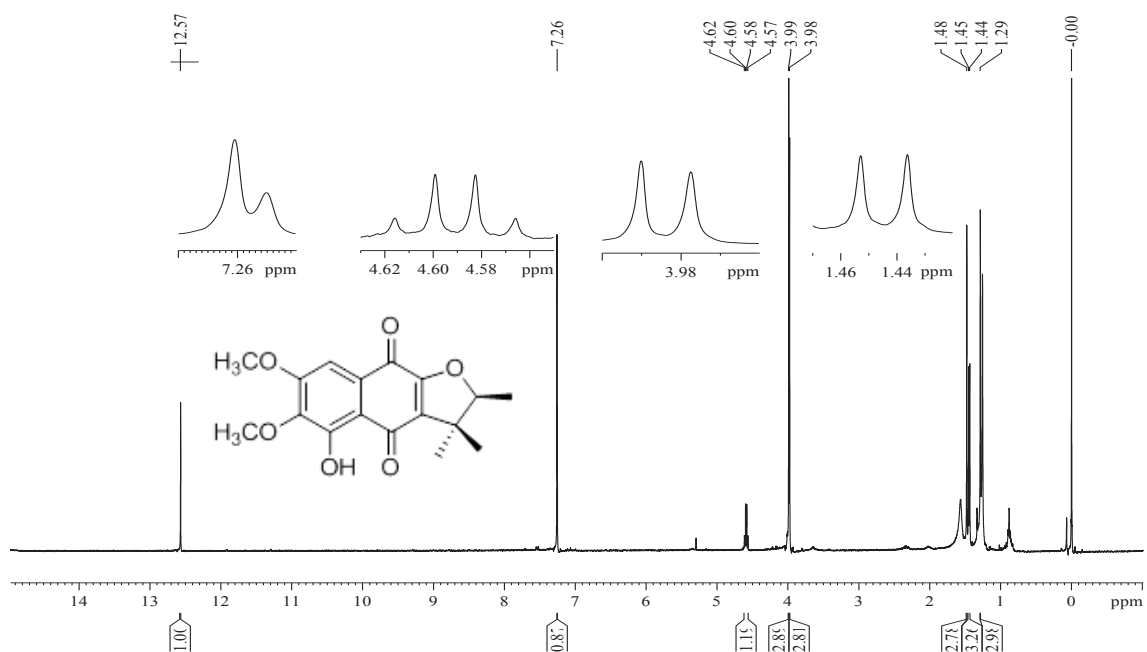
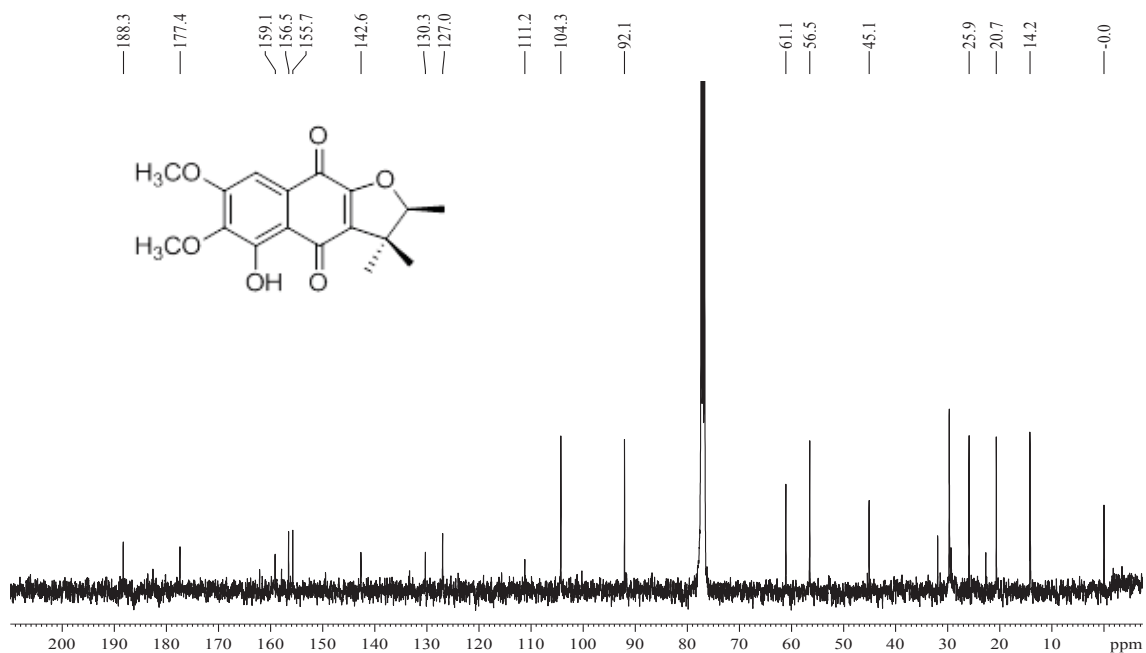
**FIGURA 26-** ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE **SR2**.**FIGURA 27-** ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR2**.



FIGURA 28- ESPECTRO NO IV DE **SR2**.FIGURA 29- ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE **SR2** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

**FIGURA 30-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR2** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



**FIGURA 31-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR2** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

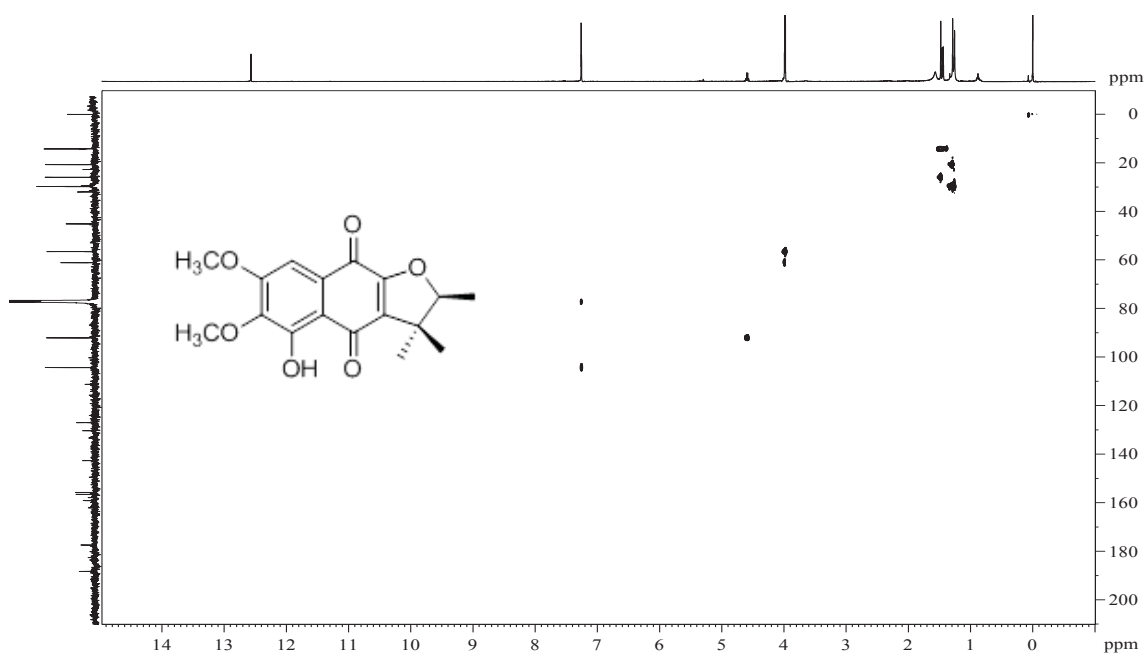
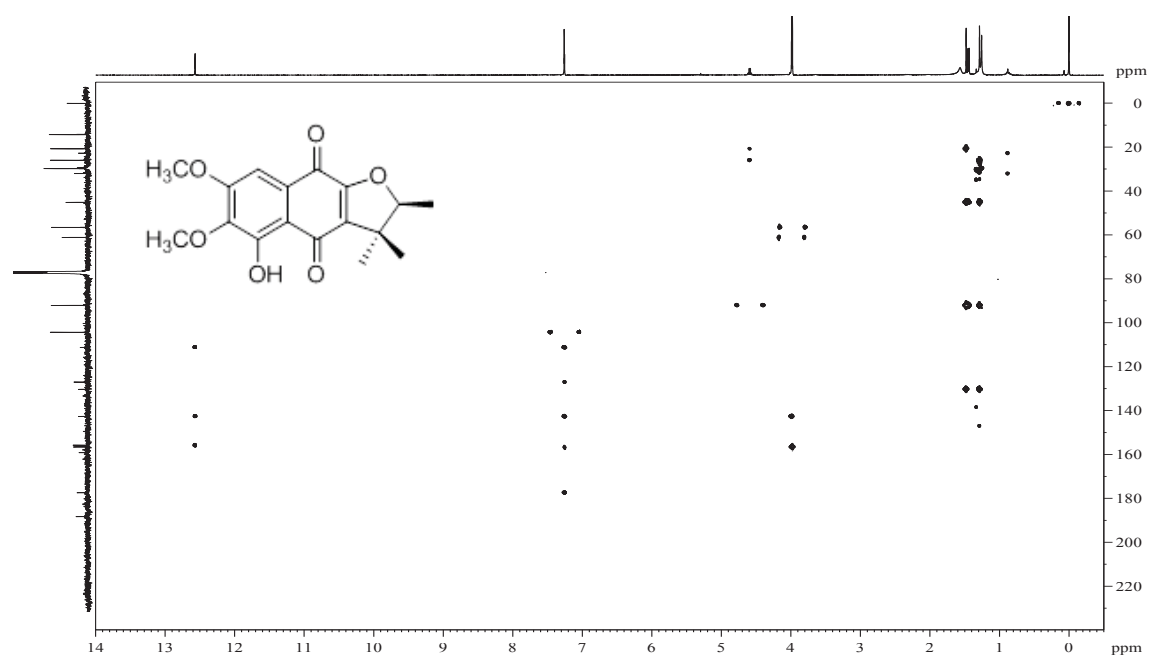


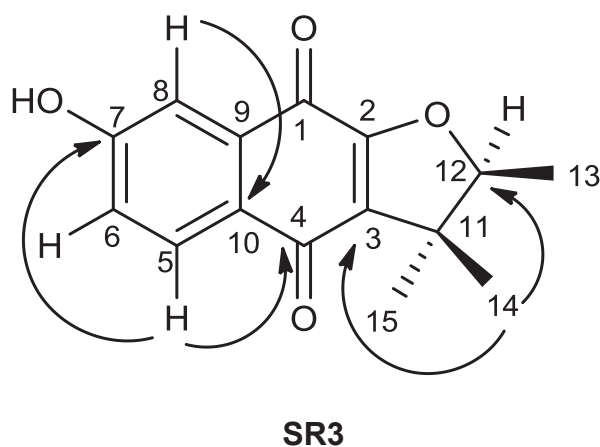
FIGURA 32- MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR2** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



### 5.1.3- Determinação estrutural de **SR3**

A substância **SR3** foi isolada como um sólido amarelo. O seu espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 8; p. 77; Figura 34; p. 77) indicou uma naftoquinna do tipo dunniona ou  $\alpha$ -dunniona. Além dos sinais do grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano, foram observados a presença de três hidrogênios, formando um sistema de spin típico de um anel aromático 1,2,4-trissubstituído, e ausência de sinais de grupos metoxila ou de hidroxila em ligação de ligação intramolecular. O esqueleto de uma  $\alpha$ -dunniona foi definido pelas correlações no HMBC entre os grupos metila em  $\delta_{\text{H}}$  1,28 (H-14) e 1,43 (H-15) com um carbono em  $\delta_{\text{C}}$  131,0 (C-3). A posição da hidroxila foi deduzida das correlações no HMBC entre o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  7,96 (d,  $J = 8,0$ ; H-5) e os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  181,5 (típico de C-4 nas  $\alpha$ -dunnionas), 159,1 (C-7) e 133,3 (C-9). As demais correlações nos mapas de contorno a uma ligação (Figura 35; p. 78) e a longa distância (Figura 36; p. 78) confirmaram a estrutura de **SR3** como 7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona. Esta substância é conhecida, tendo sido previamente isolada de *Chirita eburnea* (CAI et al., 2005), *Sinningia canescens* (VERDAN et al., 2014) e *Sinningia leucotricha* (VERDAN et al., 2015b).

**FIGURA 33- ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR3**.**

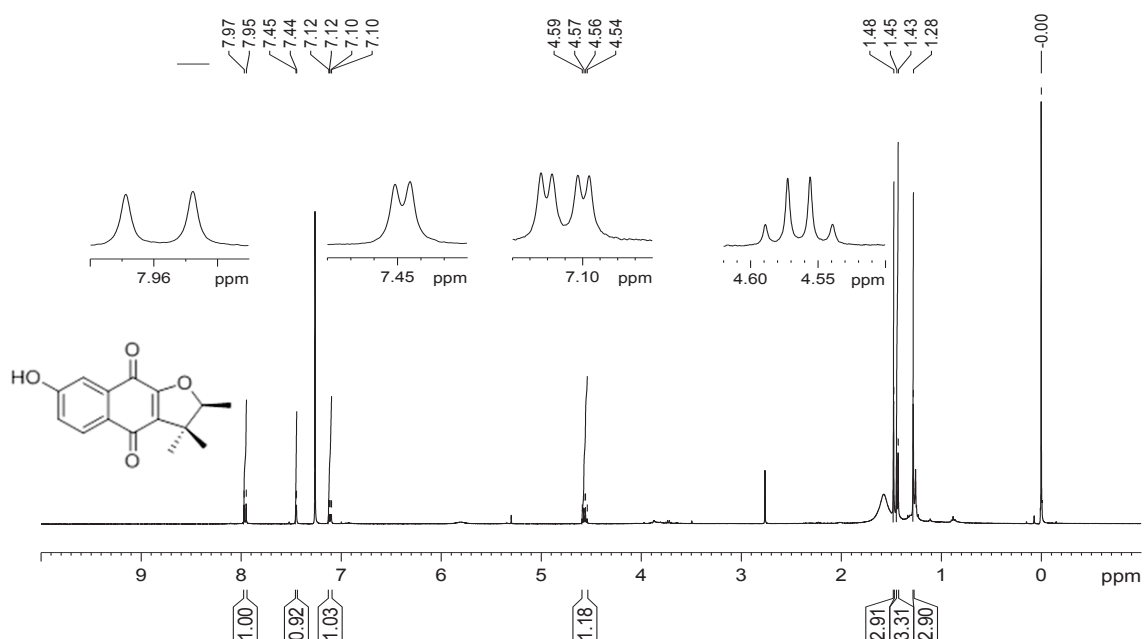


**TABELA 8-** DADOS DE RMN DE **SR3** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) EM COMPARAÇÃO COM OS DA LITERATURA PARA **7-HIDROXI- $\alpha$ -DUNNIONA** (acetona-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz, CAI et al., 2005).

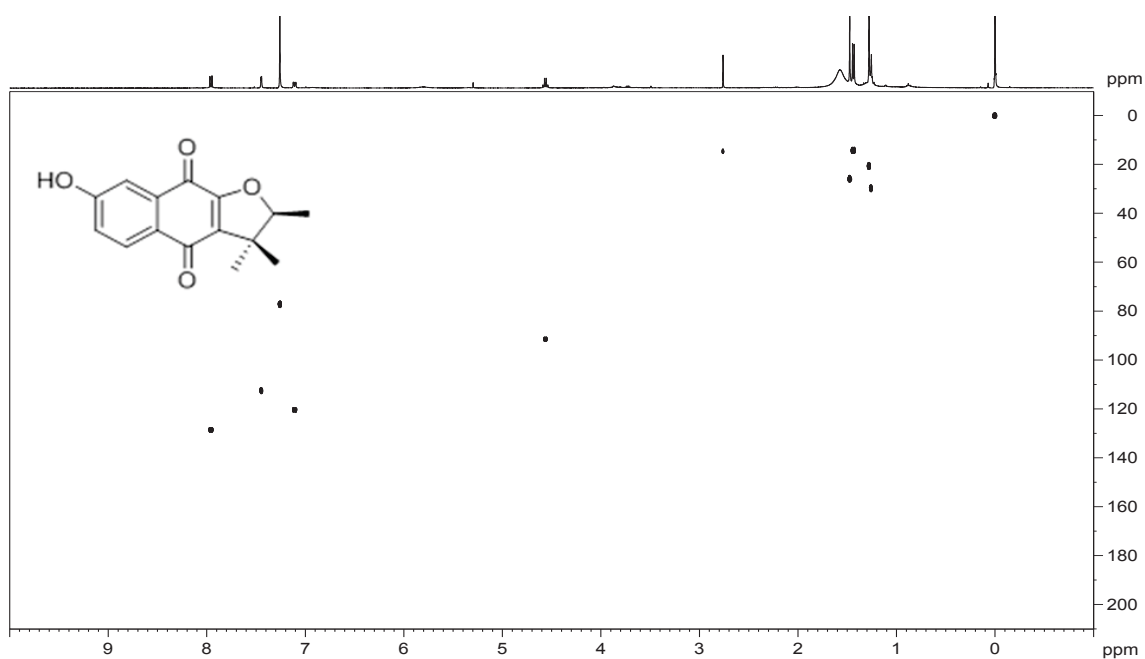
Posição	SR3			7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona	
	$\delta_H$ (mult., <i>J</i> em Hz)	$\delta_C$	$^{LD}J_{H,C}$	$\delta_H$ (mult., <i>J</i> em Hz)	$\delta_C$
1	-	N.O.		-	178,9
2	-	N.O.		-	159,1
3	-	131,0		-	130,3
4	-	181,5		-	182,2
5	7,96 ( <i>d</i> , 8,4)	128,8	4, 7, 9	7,86 ( <i>dd</i> , 8,2; 0,25)	128,9
6	7,11 ( <i>dd</i> , 8,4; 2,6)	120,4	10	7,17 ( <i>dd</i> , 8,2; 2,5)	121,0
7	-	159,1		-	162,6
8	7,45 ( <i>d</i> , 2,6)	112,5	10	7,37 ( <i>dd</i> , 2,5; 0,25)	112,7
9	-	133,3		-	134,6
10	-	126,8		-	126,7
11	-	45,3		-	45,8
12	4,56 ( <i>q</i> , 6,6)	91,7	15	4,57 ( <i>q</i> ; 6,4)	91,6
13	1,44 ( <i>d</i> , 6,6)	14,2	11, 12	1,38 ( <i>d</i> , 6,4)	14,4
14	1,28 ( <i>s</i> )	20,7	3, 11, 12, 15	1,26 ( <i>s</i> )	20,7
15	1,48 ( <i>s</i> )	25,8	3, 11, 12, 14	1,44 ( <i>s</i> )	26,1

N.O. (Não Observado)

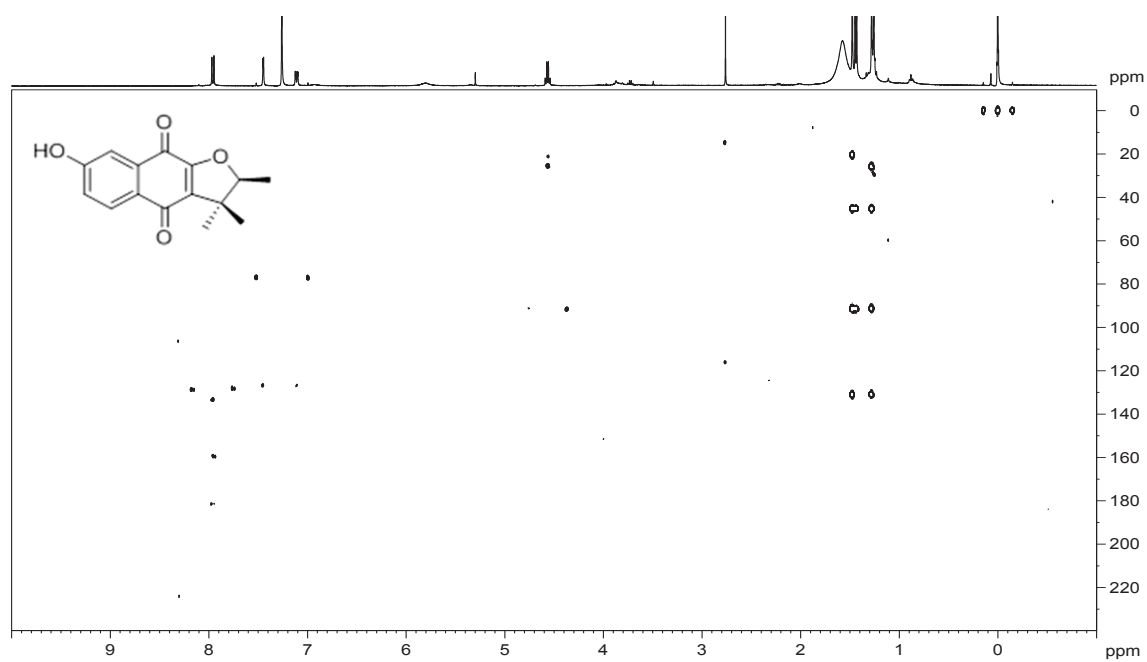
**FIGURA 34-** ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE **SR3** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



**FIGURA 35-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR3** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 Hz).



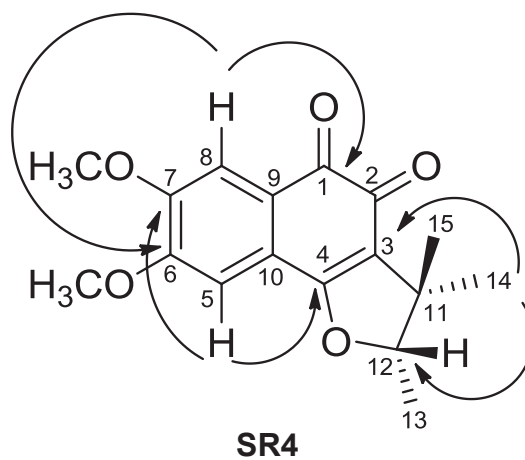
**FIGURA 36-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR3** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



#### 5.1.4- Determinação estrutural de **SR4**

A substância **SR4** foi isolada como um sólido roxo. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 303,12299  $[M + H]^+$ , indicando a fórmula molecular  $C_{17}H_{18}O_5$  para esta substância (Figura 38; p. 81). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 280 nm, característica de cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 39; p. 81). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou uma banda de absorção em  $1641\text{ cm}^{-1}$ , característica do grupo carbonila de uma  $\alpha$ -dicetona insaturada (Figura 40; p. 82).

No seu espectro de RMN  $^1H$  (Tabela 9, p. 80; Figura 41, p. 82) foram observados dois sinais de hidrogênios em  $\delta_H$  7,07 (s) e 7,55 (s), característicos de um anel aromático 1,2,4,5-tetrassubstituído; dois simpletos em  $\delta_H$  4,01 e 3,97, que podem ser atribuídos a dois grupos metoxila, e os sinais característicos de um grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano. No espectro de RMN de  $^{13}C$  (Figura 42; p. 83) foram observados 17 sinais, incluindo dois que podem ser atribuídos a grupos carbonilas em  $\delta_C$  175,8 e 180,5, e um pico em  $\delta_C$  168,2, característico de C-4 no esqueleto carbônico da dunniona. Os mapas de correlação a uma ligação (HSQC, Figura 43; p. 83) e a longa distância (HMBC, Figura 44; p. 84) confirmaram **SR4** como 6,7-dimetoxidunniona uma substância inédita na literatura. As correlações mais importantes foram observadas no HMBC entre H-5 ( $\delta_H$  7,07) e C-4 ( $\delta_C$  168,2), C-7 ( $\delta_C$  151,5) e C-9 ( $\delta_C$  125,0); entre H-8 ( $\delta_H$  7,55) e C-1 ( $\delta_C$  180,5), C-6 ( $\delta_C$  153,9) e C-7 ( $\delta_C$  151,5); e entre H-14 e H-15 ( $\delta_H$  1,25 e 1,44) com C-3( $\delta_C$  121,4) e C-12 ( $\delta_C$  92,9).

**FIGURA 37-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR4**.**TABELA 9-** DADOS DE RMN (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) DE **SR4**.

Posição	SR4		
	$\delta_H$ (mult., $J$ em Hz)	$\delta_C$	$^L J_{H,C}$
1	-	180,5	
2	-	175,8	
3	-	121,4	
4	-	168,2	
5	7,07 (s)	106,7	4, 7, 9
6	-	153,9	
7	-	151,5	
8	7,55 (s)	111,9	1, 6, 10
9	-	125,0	
10	-	122,5	
11	-	44,1	
12	4,63 (q, 6,6)	92,9	14, 15
13	1,47 (d, 6,6)	14,6	11, 12
14	1,25 (s)	20,4	3, 11, 12, 15
15	1,44 (s)	25,8	3, 11, 12, 14
6-OCH <sub>3</sub>	4,01 (s)	56,5	6
7-OCH <sub>3</sub>	3,97 (s)	56,4	7



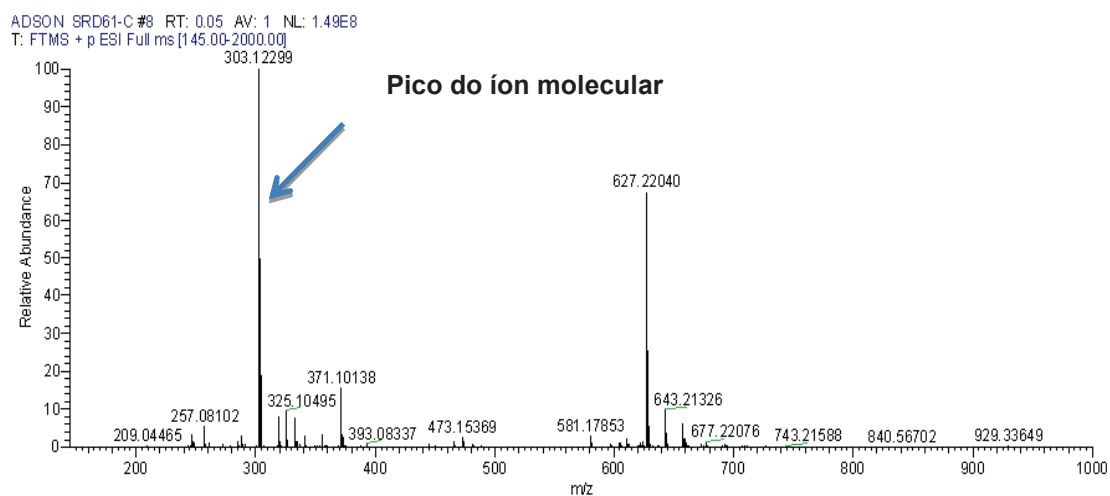
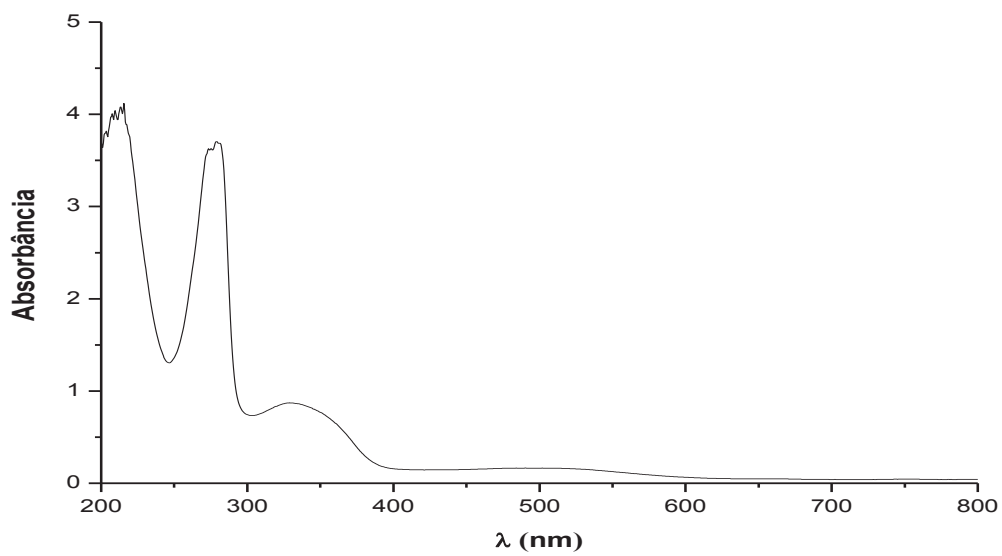
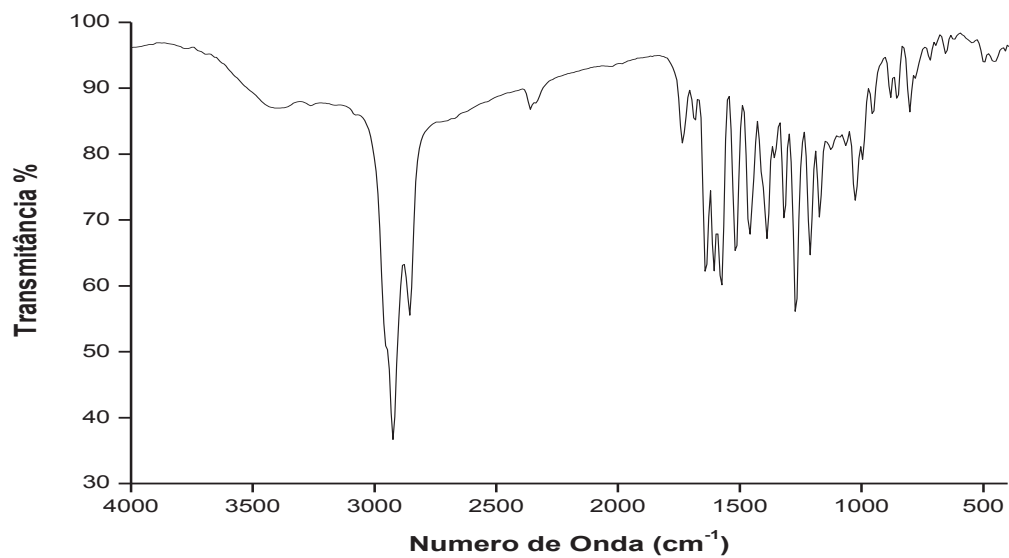
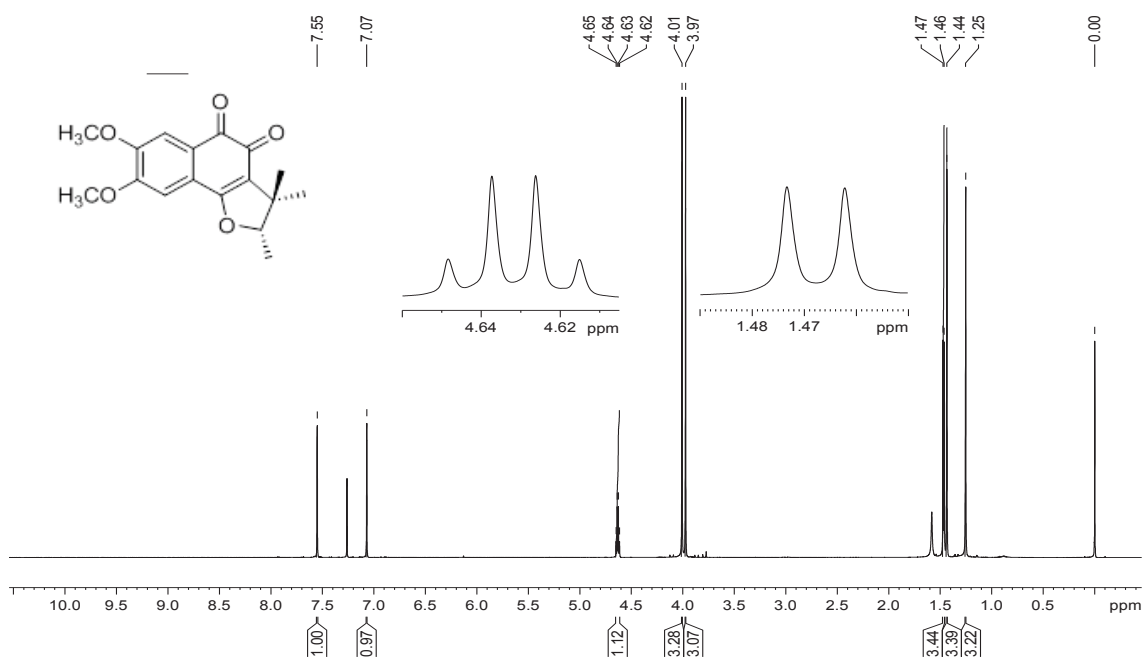
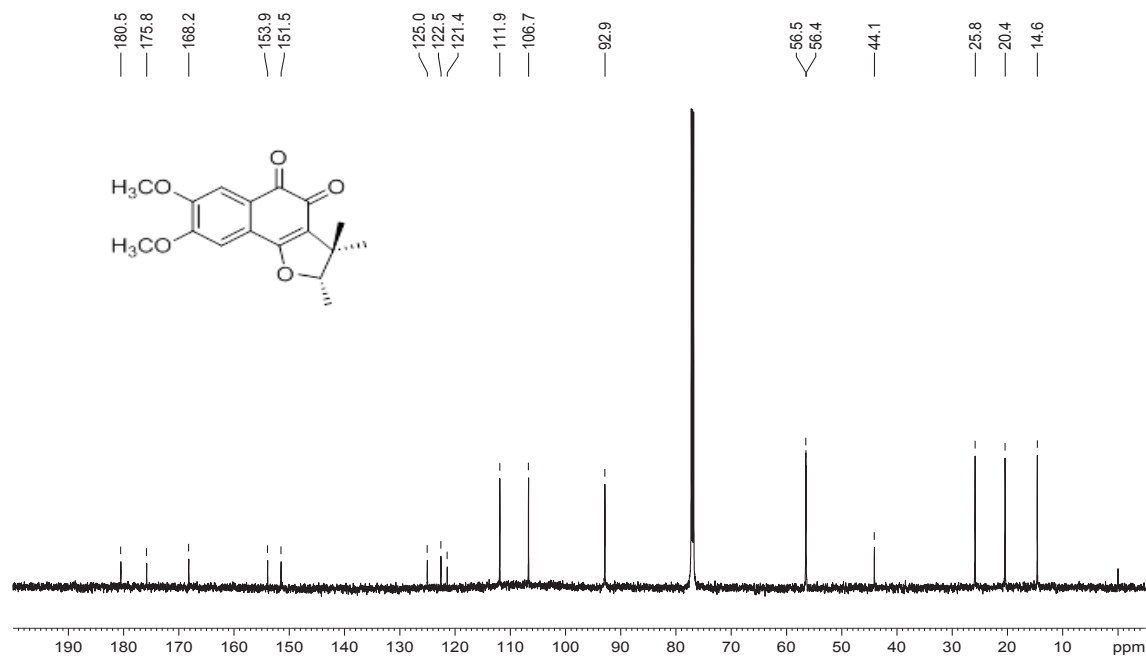
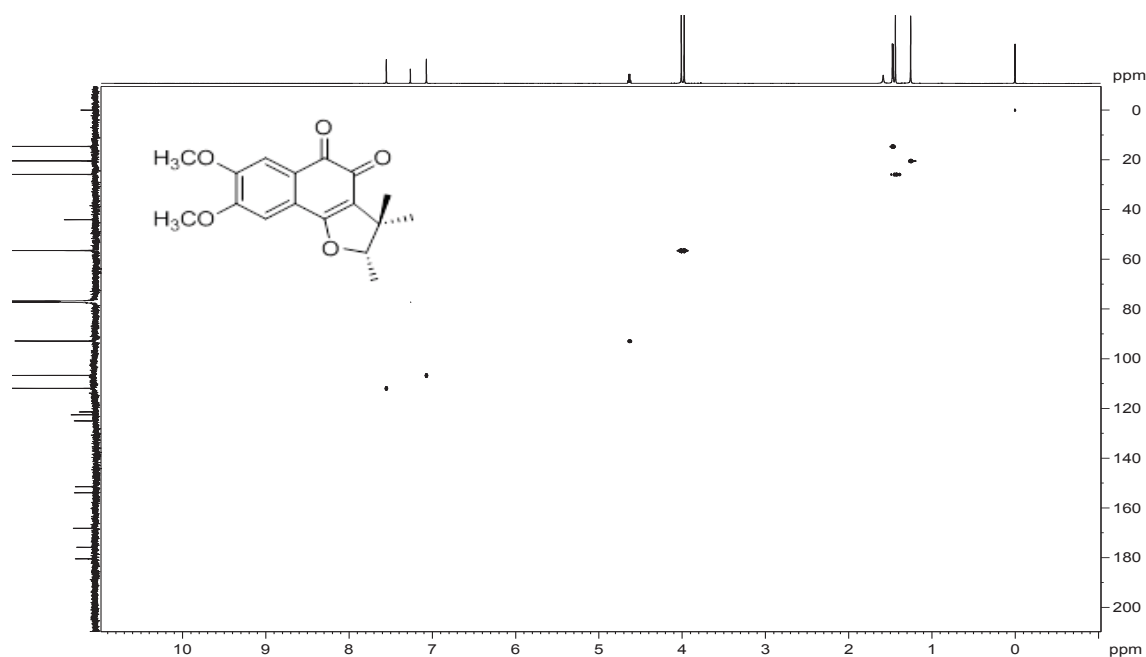
**FIGURA 38- ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE SR4.****FIGURA 39- ESPECTRO NO UV-VIS DE SR4.**

FIGURA 40- ESPECTRO NO IV DE **SR4**.FIGURA 41- ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE **SR4** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz).

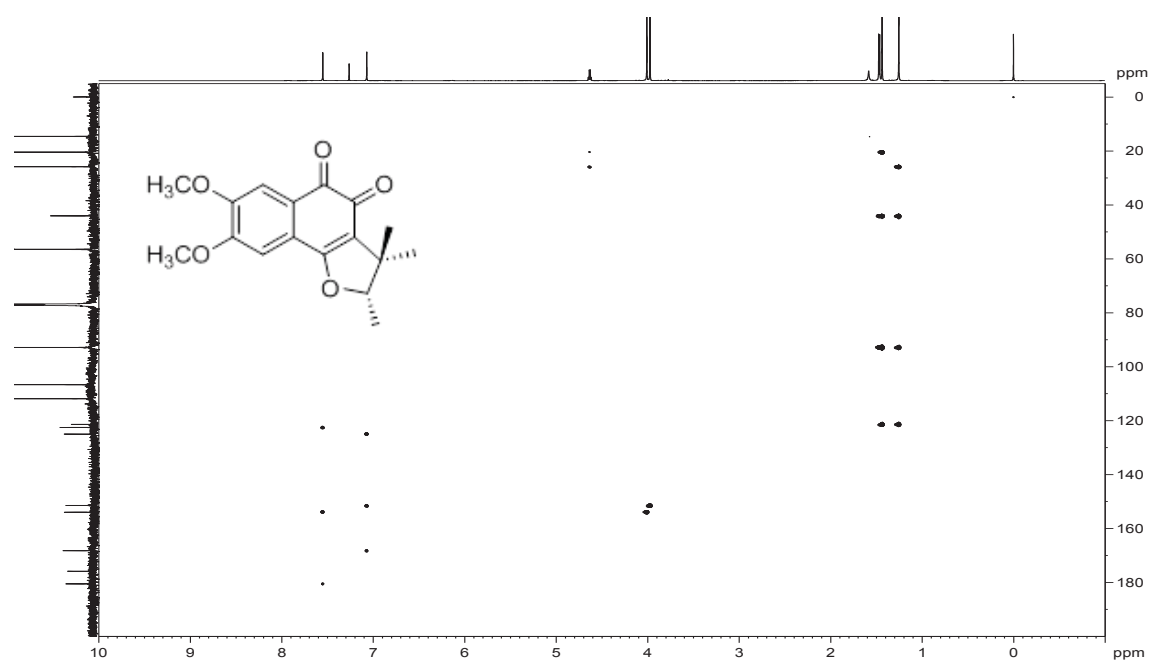
**FIGURA 42-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR4** ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz).



**FIGURA 43-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR4** ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz).



**FIGURA 44-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR4** ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz).

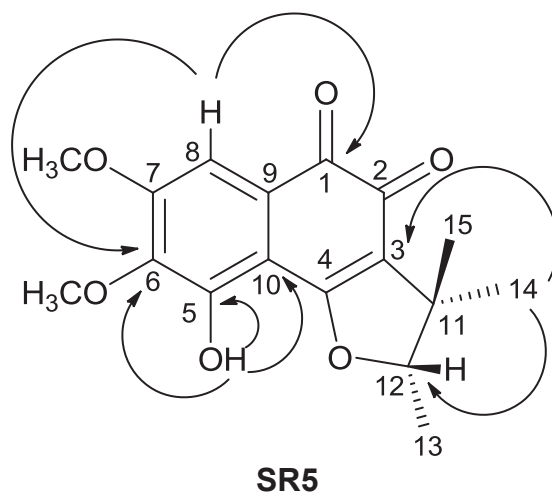


#### 5.1.5- Determinação estrutural de **SR5**

A substância **SR5** foi isolada como um sólido roxo. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 319,11847  $[M + H]^+$ , indicando a fórmula molecular  $C_{17}H_{18}O_6$  para esta substância (Figura 46; p. 87). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 267 nm, característica de cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 47; p. 87). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou uma banda de absorção em  $1642\text{ cm}^{-1}$  característica dos grupos carbonila da unidade quinona, e também uma banda fina em  $3421\text{ cm}^{-1}$ , típica de hidroxila livre (Figura 48; p. 88).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **SR5** (Tabela 10; p. 86, Figura 49; p. 88) observou-se um sinal de hidrogênio aromático em  $\delta_H$  7,36 (s), característico de um anel benzênico pentassubstituído; dois simpletos em  $\delta_H$  3,97 e 3,96, que podem ser atribuídos a dois grupos metoxilas, um simpleto de um grupo hidroxila em  $\delta_H$  7,69, e os sinais característicos de um grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano (dois simpletos em  $\delta_H$  1,44 e 1,27; um duplete em  $\delta_H$  1,51; um quarteto em  $\delta_H$  4,74). No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 50; p. 89) foram observados 17 sinais, incluindo dois que podem ser atribuídos a grupos carbonilas ( $\delta_C$  175,3 e 180,5). Esses dados apontaram para uma 1,2 naftoquinona.

Os mapas de correlação a uma ligação (HSQC, Figura 51; p. 89) e a longa distância (HMBC, Figura 52; p. 90) confirmaram **SR5** como 5-hidroxi-6,7-dimetoxi-dunniona, uma substância inédita na literatura. As principais correlações foram observadas no HMBC entre H-8 ( $\delta_H$  7,36) e C-1 ( $\delta_C$  180,5) e C-6 ( $\delta_C$  142,3); entre a hidroxila ( $\delta_H$  7,69) e C-6 e C-10 ( $\delta_C$  106,9); e entre H-14 e H-15 ( $\delta_H$  1,27 e 1,44) com C-3 ( $\delta_C$  121,2) e C-12 ( $\delta_C$  94,4).

**FIGURA 45-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR5**.**TABELA 10-** DADOS DE RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) DE **SR5**

Posição	SR5		
	$\delta_H$ (mult., <i>J</i> em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$
1	-	180,5	
2	-	175,3	
3	-	121,2	
4	-	168,1	
5	-	148,9	
6	-	142,3	
7	-	155,7	
8	7,36 (s)	108,5	1,6,10
9	-	126,5	
10	-	106,9	
11	-	43,0	
12	4,75 (q, 6,6)	94,4	14,15
13	1,51 (d, 6,6)	14,7	11,12
14	1,27 (s)	20,3	3,11,12, 15
15	1,44 (s)	25,6	3,11,12, 14
6-OCH <sub>3</sub>	3,97 (s)	61,1	6
7-OCH <sub>3</sub>	3,96 (s)	56,6	7
OH	7,69 (s)	-	5, 6, 10

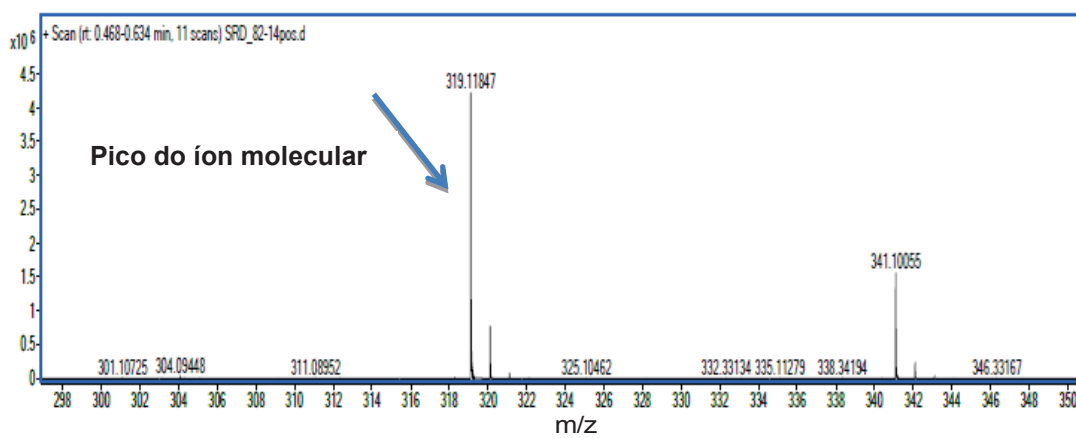
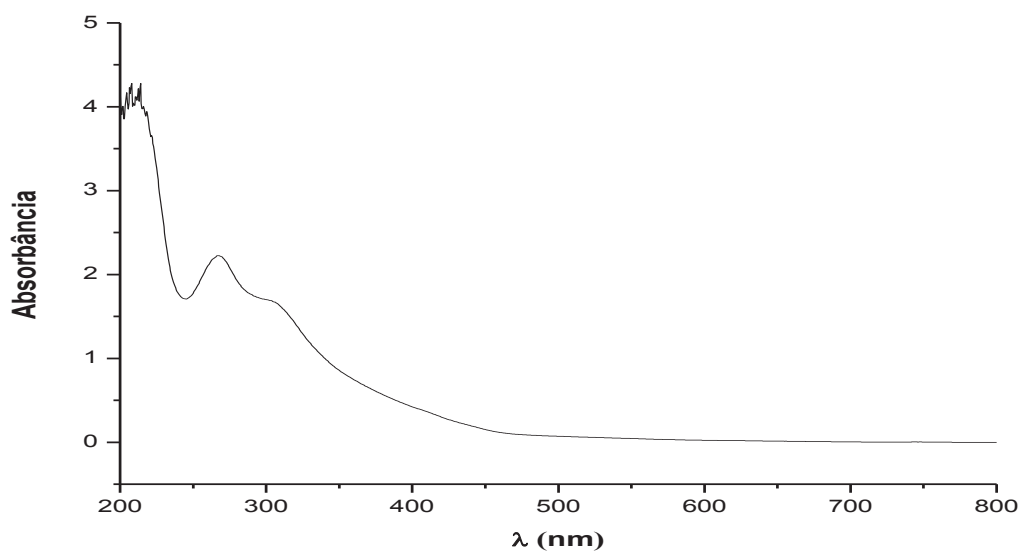
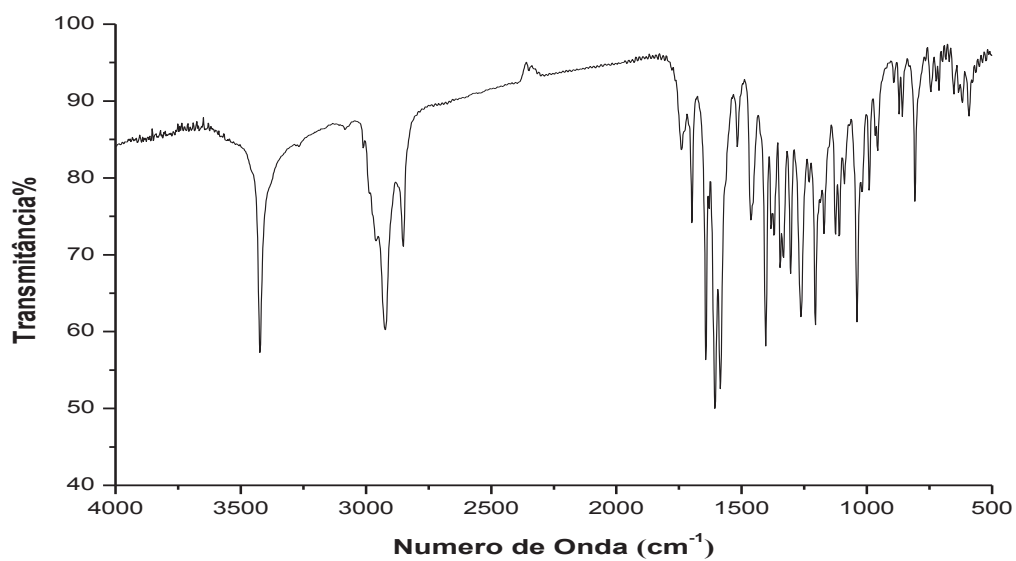
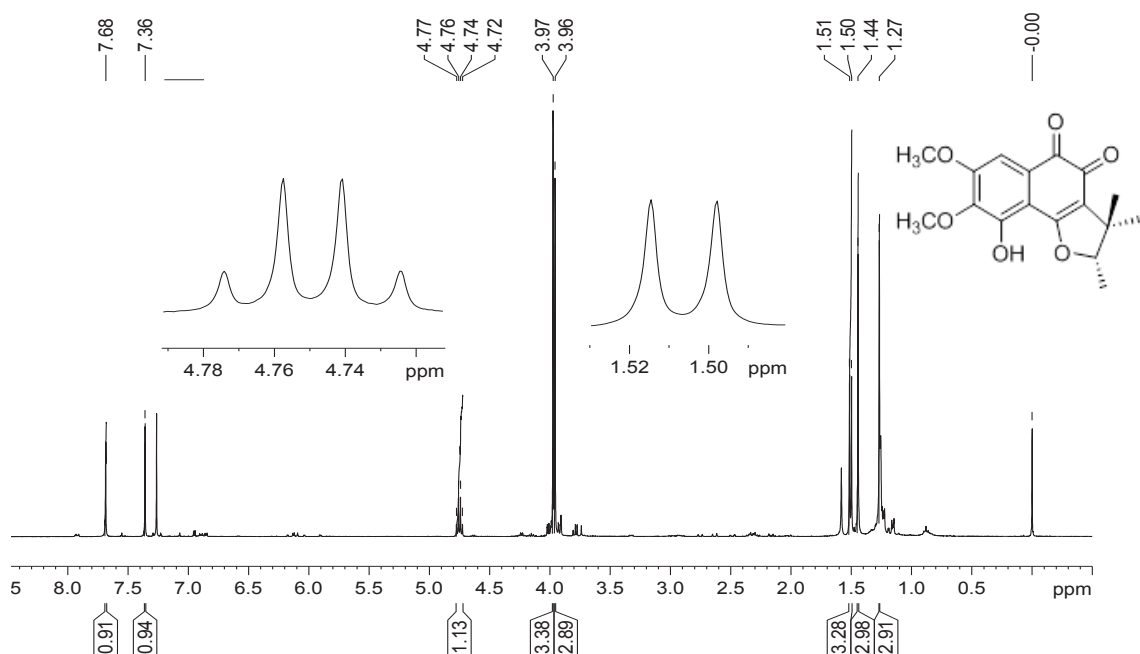
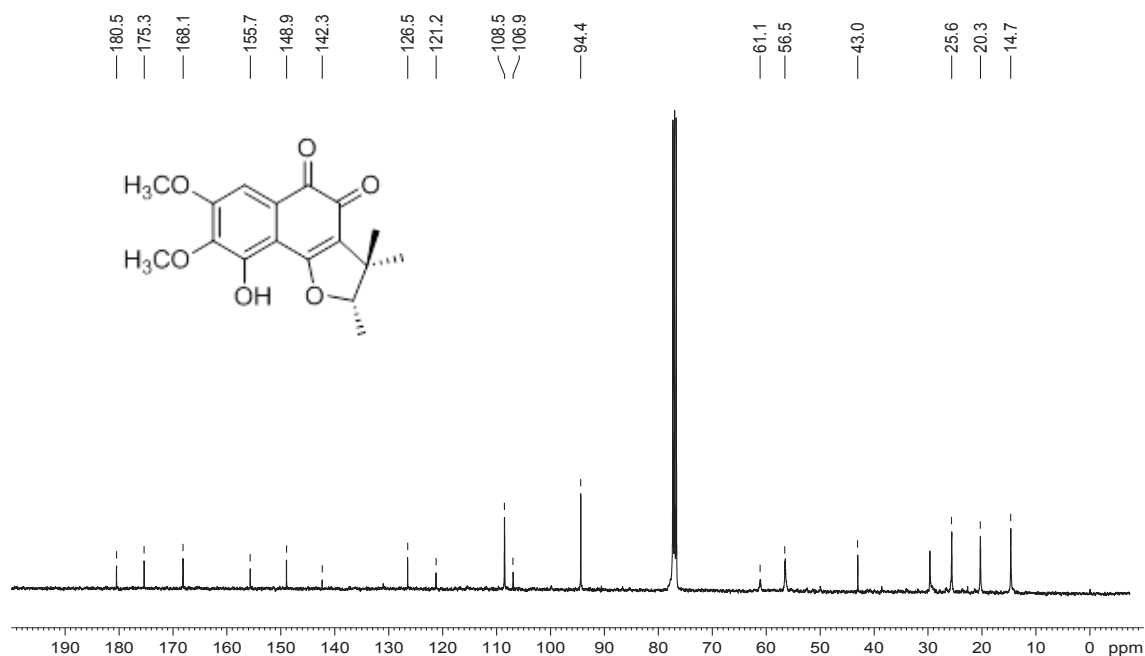
**FIGURA 46-** ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE **SR5**.**FIGURA 47-** ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR5**.

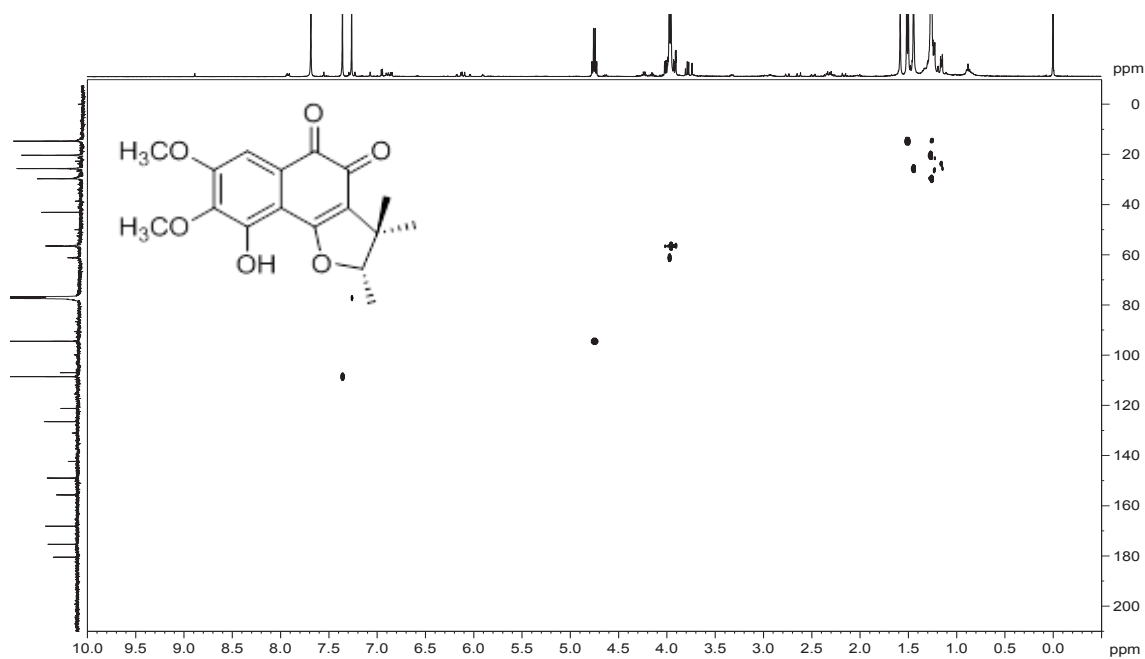
FIGURA 48- ESPECTRO NO IV DE **SR5**.FIGURA 49- ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE **SR5** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



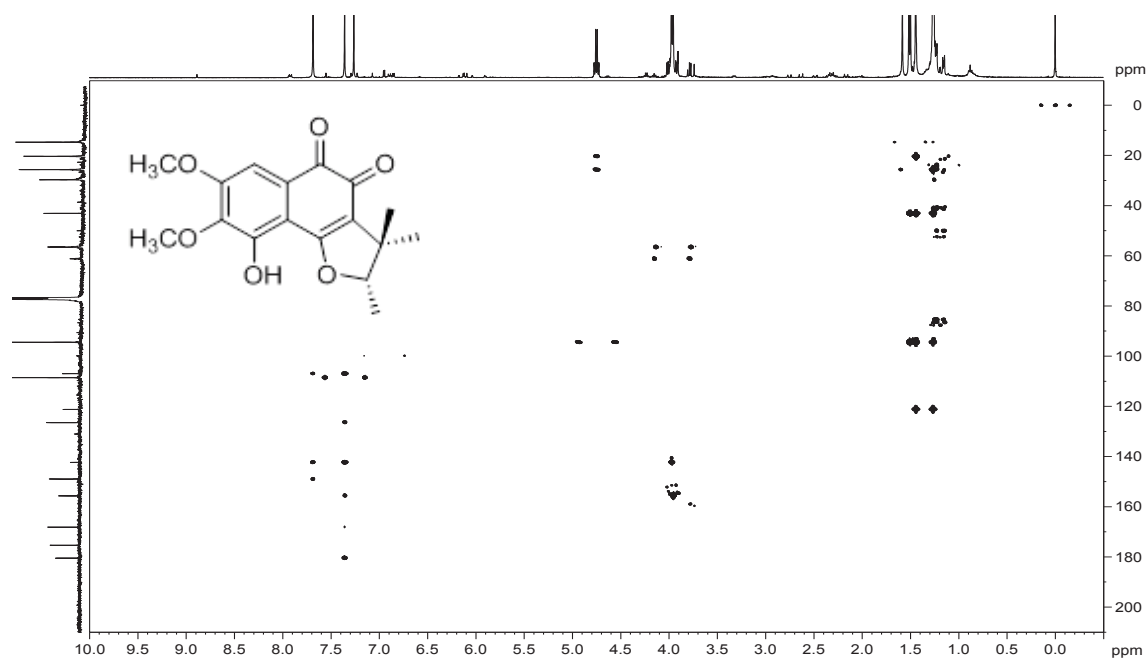
**FIGURA 50-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR5** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



**FIGURA 51-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR5** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



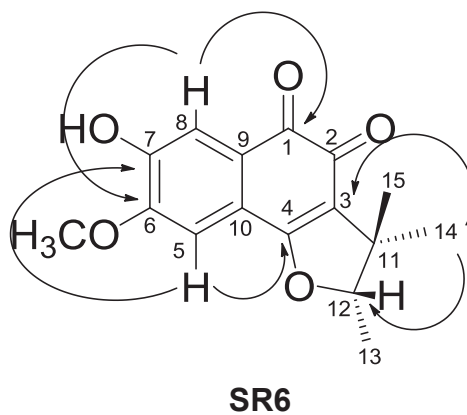
**FIGURA 52-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTANCIA DE **SR5** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



#### 5.1.6- Determinação estrutural de **SR6**

A substância **SR6** foi isolada como um sólido roxo. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 289,10808  $[M + H]^+$ , indicando a fórmula molecular  $C_{16}H_{16}O_5$  para esta substância (Figura 54; p. 93). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou duas bandas intensas em 277 e 283 nm, características de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 55; p. 93). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou uma banda de absorção em  $1629\text{ cm}^{-1}$  característica dos grupos carbonila de uma quinona  $\alpha,\beta$ -insaturada, e uma banda fina e intensa em  $3539\text{ cm}^{-1}$  típica de hidroxila livre, além de uma banda mais larga em  $3425\text{ cm}^{-1}$ , de hidroxila associada em ligação de hidrogênio intermolecular (Figura 56; p. 94).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  dessa substância (Tabela 11; p. 93, Figura 57; p. 94), mostrou sinais de dois hidrogênios aromáticos, como simpletos, indicando uma relação *para* entre eles ( $\delta_{\text{H}}$  7,07 e 7,59), um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  4,03 que foi atribuído a um grupo metoxila, e também sinais característicos de um grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano (dois simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  1,43 e 1,25; um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  1,46; um quarteto em  $\delta_{\text{H}}$  4,62). O seu espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 58; p. 95) apresentou sinais de 16 carbonos, incluindo dois que podem ser atribuídos à carbonilas ( $\delta_{\text{C}}$  175,8 e 180,5) de uma 1,2 naftoquinona (INOUE et al., 1982). A análise dos mapas de correlação HSQC e HMBC (Figuras 59 e 60; p. 95-96) confirmaram **SR6** como 7-hidroxi-6-metoxi-dunniona, uma substância inédita na literatura. As correlações mais importantes foram observadas no HMBC entre H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  7,07) e C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  168,3), C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  148,5) e C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  125,8); entre H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  7,59) e C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  180,5), C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  151,1) e C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  121,8); e entre H-14 e H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  1,25 e 1,43) com C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  121,4) e C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  92,8).

**FIGURA 53-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR6**.**TABELA 11-** DADOS DE RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) DE **SR6**.

Posição	SR6		
	$\delta_H$ (mult., $J$ em Hz)	$\delta_C$	${}^{LD}J_{H,C}$
1	-	180,5	
2	-	175,8	
3	-	121,4	
4	-	168,3	
5	7,07 (s)	106,5	4, 7, 9
6	-	151,1	
7	-	148,5	
8	7,59 (s)	116,2	1, 6, 10
9	-	125,8	
10	-	121,8	
11	-	43,1	
12	4,62 ( <i>q</i> , 6,6)	92,8	14, 15
13	1,46 ( <i>d</i> , 6,6)	14,6	11, 12
14	1,25 (s)	20,4	3, 11, 12, 15
15	1,43 (s)	25,8	3, 11, 12, 14
6-OCH <sub>3</sub>	4,03 (s)	56,6	6

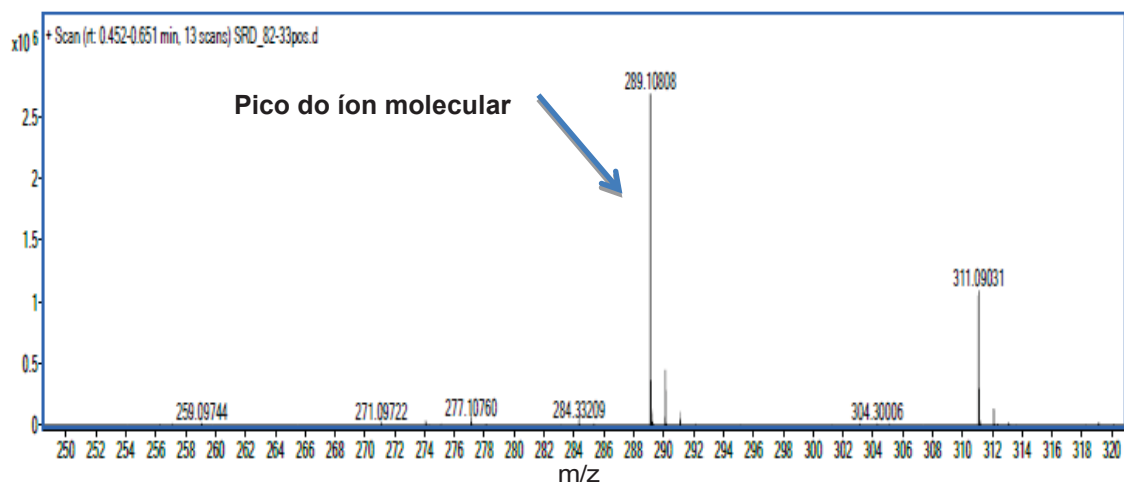
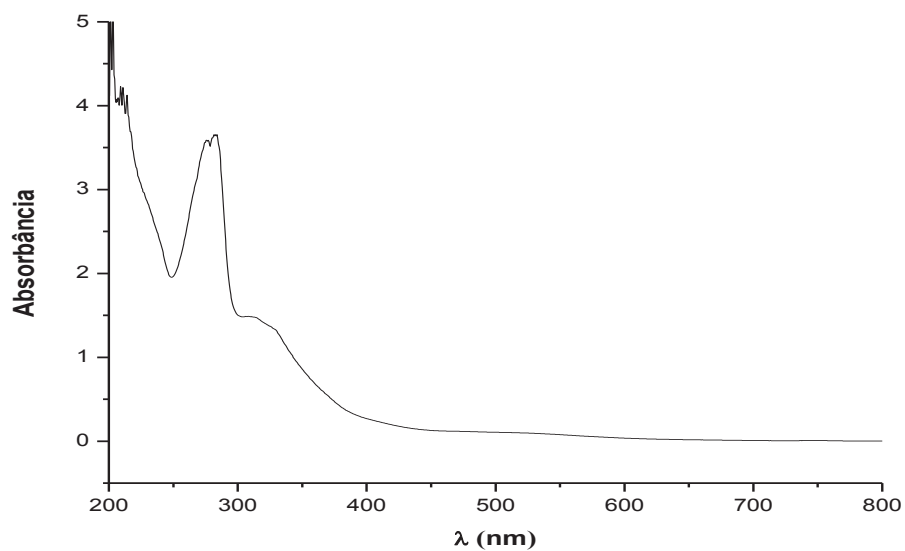
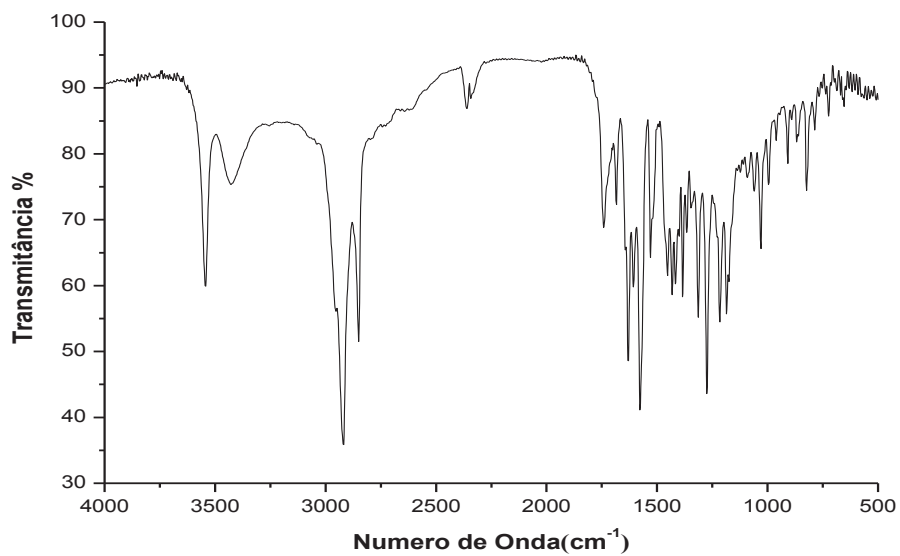
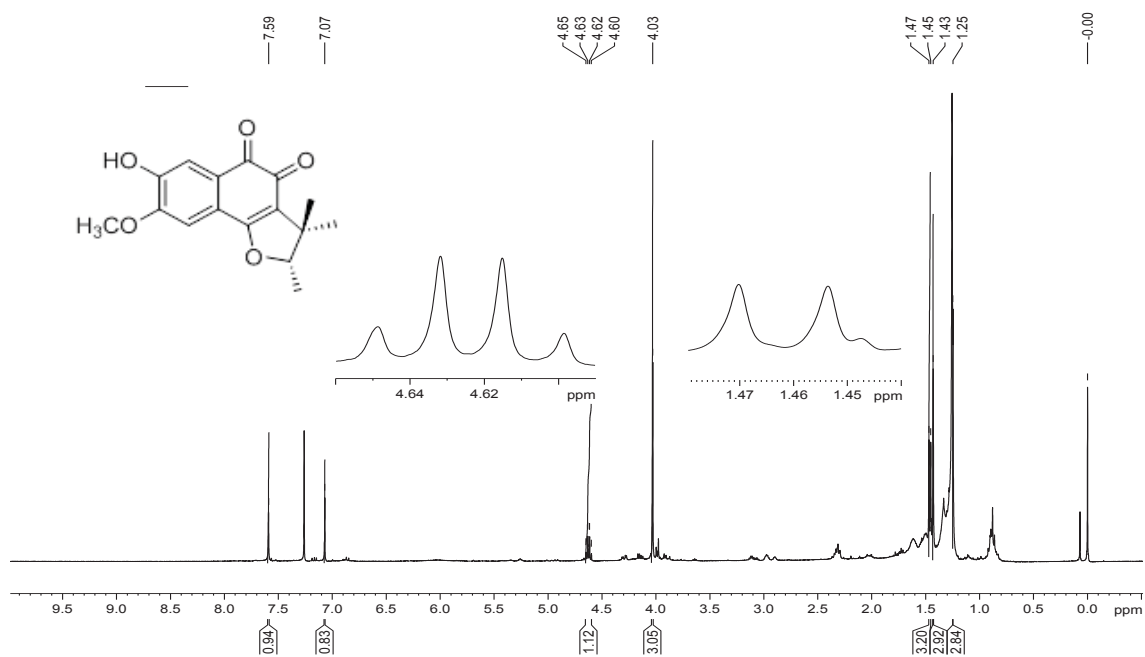
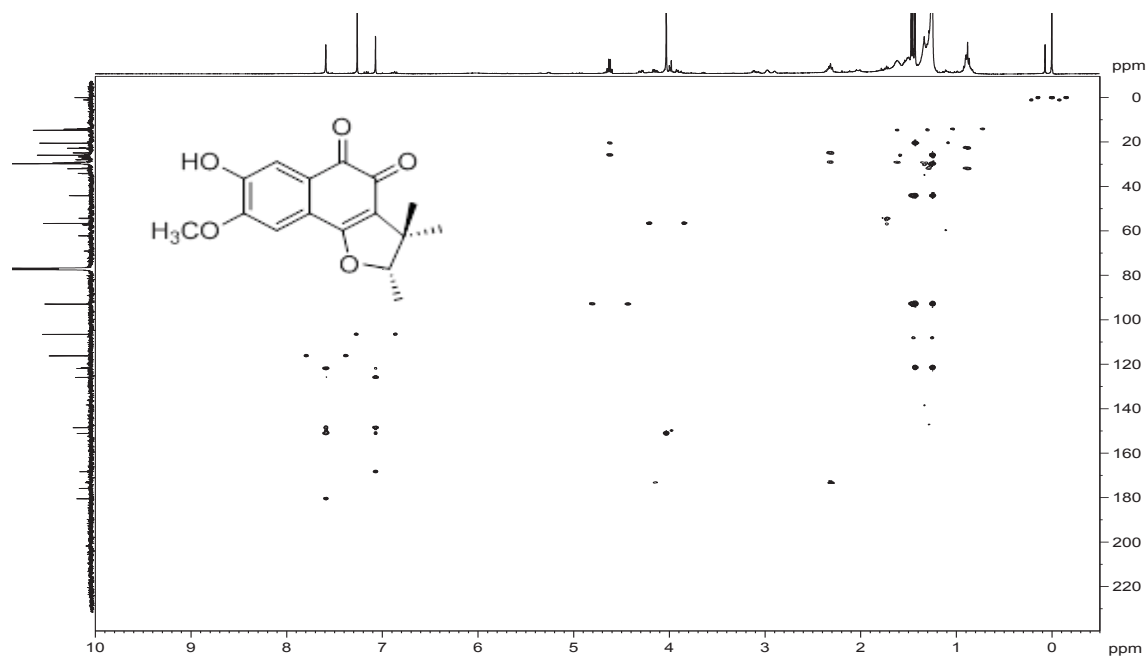
**FIGURA 54-** ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE **SR6**.**FIGURA 55-** ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR6**.

FIGURA 56- ESPECTRO NO IV DE SR6.

FIGURA 57- ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE SR6 ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 60-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR6** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

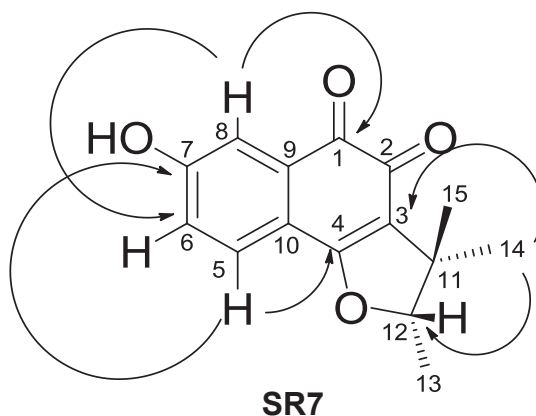




### 5.1.7- Determinação estrutural de **SR7**

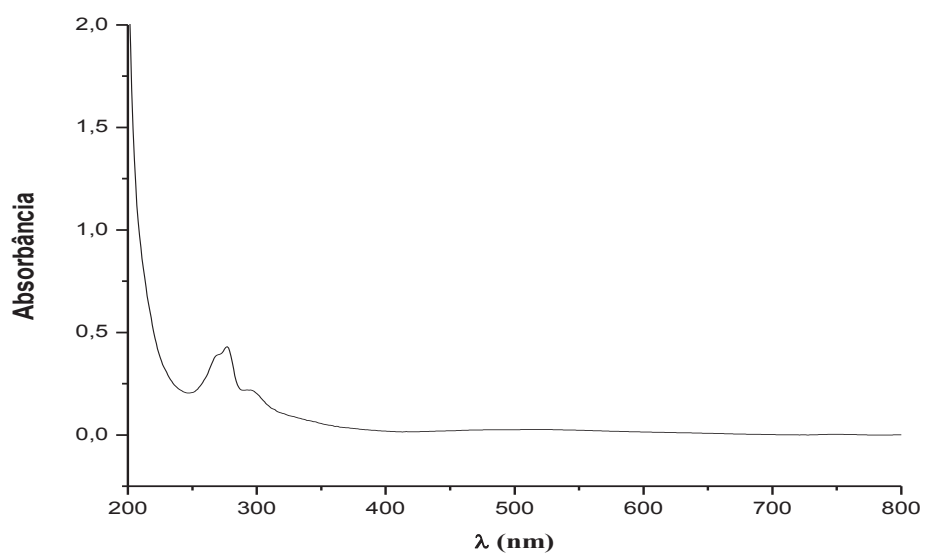
A substância **SR7** foi isolada como um sólido roxo. O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou duas bandas intensas em 267 e 278 nm, características de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 62; p. 99).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância **SR7** (Tabela 12; p. 98, Figura 63; p. 99), mostrou sinais de três hidrogênios aromáticos, com multiplicidade e constantes de acoplamento característicos de um anel benzênico 1,2,4-trissubstituído ( $\delta_{\text{H}}$  7,08, 7,52 e 7,54), além de sinais característicos de um grupo 2,3,3-trimetil-2,3-diidrofurano (dois simpletos em  $\delta_{\text{H}}$  1,44 e 1,26; um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  1,46; um quarteto em  $\delta_{\text{H}}$  4,64). O seu espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 64; p. 100) apresentou sinais de 15 carbonos, incluindo dois em  $\delta_{\text{C}}$  175,5 e 181,9 que podem ser atribuídos a carbonilas de uma 1,2 naftoquinona do tipo dunniona (INOUE et al., 1983). A análise dos mapas de correlação HSQC e HMBC (Figuras 65 e 66; p. 100-101) mostrou correlações entre H-5 ( $\delta_{\text{H}}$  7,52) e C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  169,7), C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  159,8), e C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  132,8); entre H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  7,08) e C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  116,9) e C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  120,3); entre H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  7,54) e C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  191,9), C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  120,9) e C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  120,3); e entre H-14 e H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  1,25 e 1,44) e C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  121,2) e C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  93,1). Estas e as demais correlações observadas confirmaram **SR7** como 7-hidroxi-dunniona (INOUE et al., 1982).

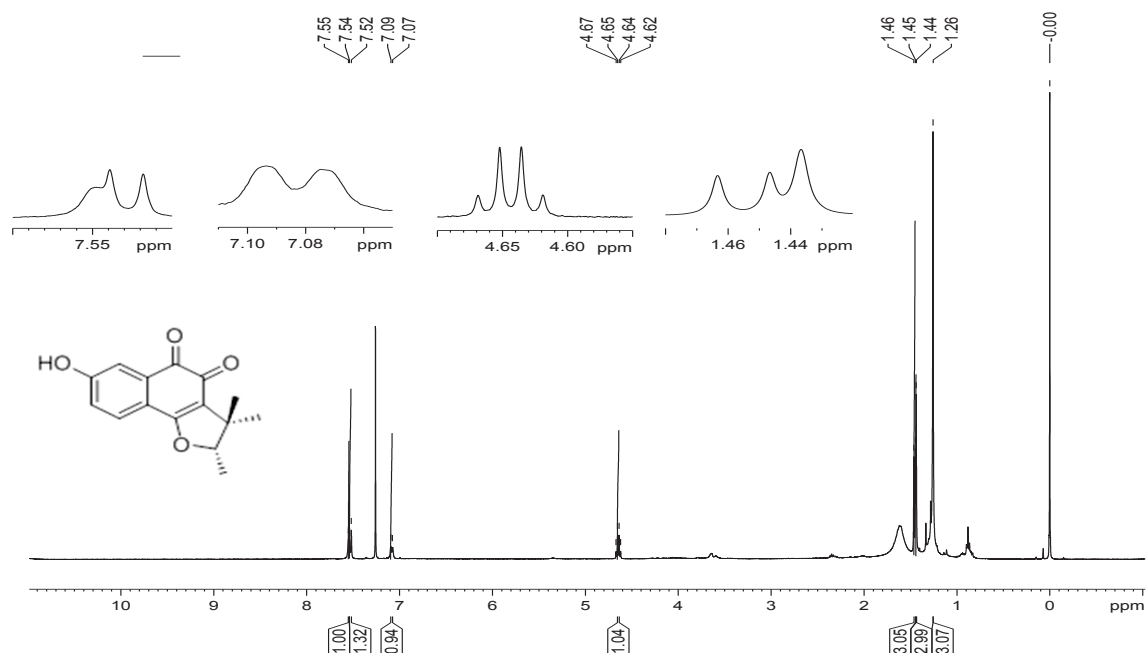
**FIGURA 61-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR7****TABELA 12-** DADOS DE RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) DE **SR7** EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA A **7-HIDROXIDUNNIONA** (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz, INOUE et al., 1983).

Posição	SR7			7-hidroxidunniona	
	$\delta_H$ (mult., J em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$	$\delta_H$ (mult., J em Hz)	$\delta_C$
1	-	181,9		-	181,8
2	-	175,5		-	175,5
3	-	121,2		-	120,3
4	-	169,7		-	164,5
5	7,52 (d, 8,0)	126,8	4,7,9	7,51 (d, 8,0)	126,8
6	7,08 (dd, 8,0; 1,4)	120,9	8,10	7,12 (dl, 8,0)	120,9
7	-	159,8		-	159,5
8	7,54 (d, 1,4)	116,9	1,6,10	7,61 (sl)	117,0
9	-	132,8		-	132,8
10	-	120,3		-	121,3
11	-	44,2		-	43,9
12	4,64 (q, 6,6)	93,1	14,15	4,64 (q, 7,0)	93,1
13	1,46 (d, 6,6)	14,6	11,12	1,46 (d, 7,0)	14,6
14	1,25 (s)	20,4	3, 11, 12, 15	1,25 (s)	20,4
15	1,44 (s)	25,8	3, 11, 12, 14	1,44 (s)	25,9

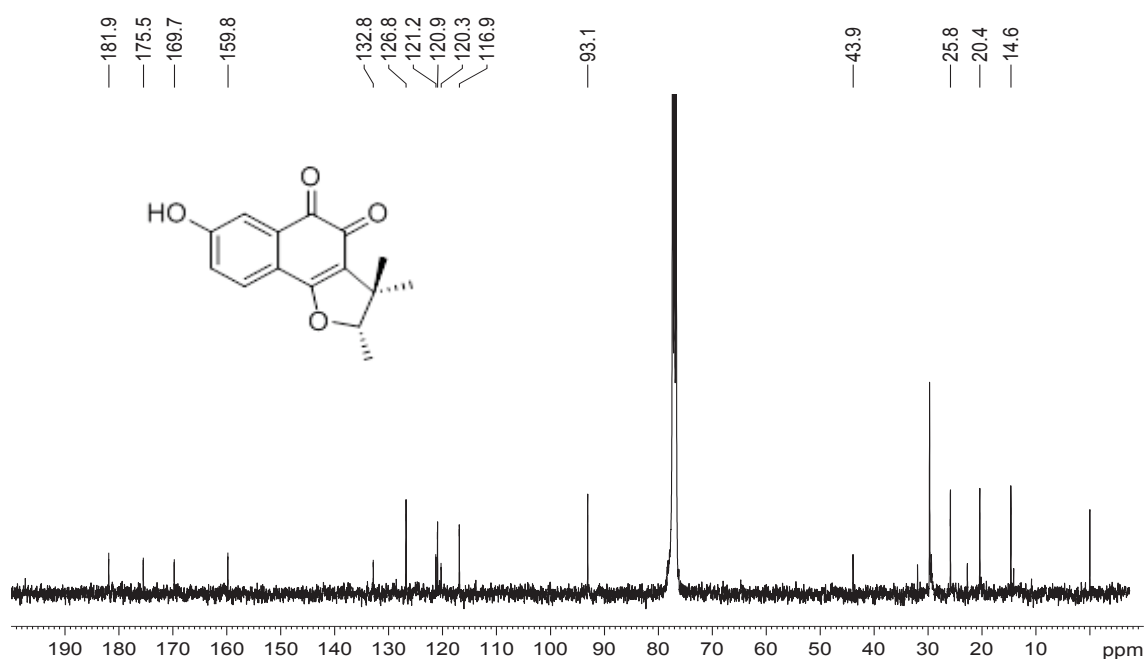
**FIGURA 62-** ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR7**.



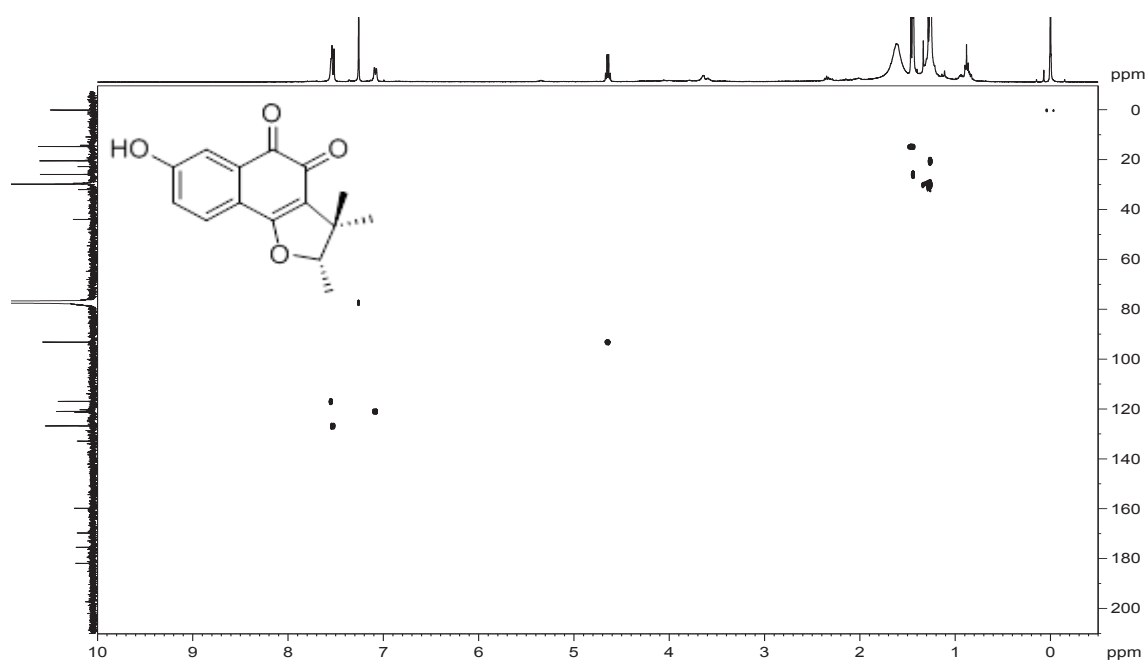
**FIGURA 63-** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SR7** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



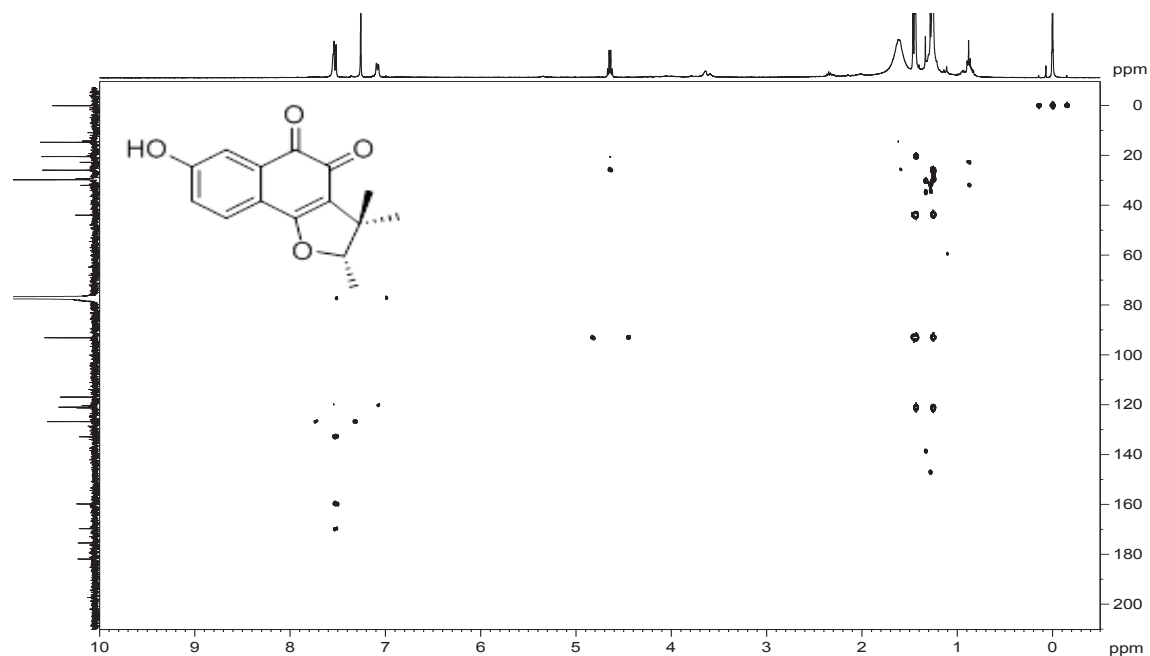
**FIGURA 64-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR7** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



**FIGURA 65-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR7** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 66-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR7** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



### 5.1.8 - Configuração absoluta e pureza ótica das naftoquinonas **SR1-SR7**

As naftoquinonas **SR1-SR7** são quirais, pois possuem um estereocentro (C-12), podendo ter um par de enantiômeros. Substâncias com esse esqueleto básico foram primeiramente isoladas de *Streptocarpus dunnii*, uma gesneriácea nativa da África do Sul, derivando da espécie da planta a palavra “dunniona”, usada na sua nomenclatura comum.

Dunniona (**3**), o pigmento alaranjado das folhas de *S. dunnii*, foi obtido inicialmente ainda em 1938 e, na década seguinte, vários derivados foram preparados, incluindo  $\alpha$ -dunniona (COOKE; SOMMERS, 1950). Em 1982, Inoue e colaboradores isolaram pela primeira vez vários derivados da dunniona e publicaram os seus dados de RMN (INOUE et al., 1982; 1983). No entanto, esses trabalhos pioneiros, e mesmo alguns posteriores (INOUE et al., 1984; GUAY e BRASSARD, 1986; PEREZ; LAMOUREUX e SANCHEZ-KOPPER, 2007) não abordaram a questão da configuração absoluta.

Em 2005, Cai e colaboradores trabalharam com *Chirita eburnea*, uma gesneriácea nativa da China, e descreveram o isolamento de  $\alpha$ -dunniona (**6**, p. 31) e, de quatro novos derivados da  $\alpha$ -dunniona: 7-hidroxi- $\alpha$ -dunniona (também isolada no presente trabalho como **SR3**), 8-hidroxi- $\alpha$ -dunniona, 7,8-diidroxi- $\alpha$ -dunniona, e 6,8-diidroxi-7-metoxi- $\alpha$ -dunniona. O espectro de dicroísmo circular desta última substância foi obtido, mostrando um efeito Cotton negativo em 302 nm, atribuído à carbonila em C-4, e outro positivo em 380 nm, atribuído à carbonila em C-1. O efeito Cotton no espectro de dicroísmo circular está relacionado com a estrutura molecular. A partir da aplicação das regras do octante para cetonas, a configuração absoluta dessa substância foi determinada como *R*. Como essa substância era levógira ( $[\alpha]_D -120$ ), foi deduzido que a  $\alpha$ -dunniona e os demais derivados, que também eram levógiros, teriam a configuração absoluta *R* (CAI et al., 2005).

Há dois erros nesse artigo. O primeiro é considerar que as cinco substâncias citadas acima, que possuem o mesmo sinal de rotação específica, também têm a mesma configuração absoluta, embora apenas um deles tenha sido analisado por dicroísmo circular. É bem conhecido que a mudança de substituintes, mesmo longe do estereocentro, pode causar inversão do sinal da rotação específica, sem mudanças na estereoquímica. O correto seria obter o espectro de dicroísmo circular

de todas as substâncias isoladas, e se fossem sobreponíveis, poderiam ser consideradas com a mesma configuração absoluta. O outro erro está na representação das moléculas. Embora afirme que todas tem configuração *R*, estão representadas como *S*.

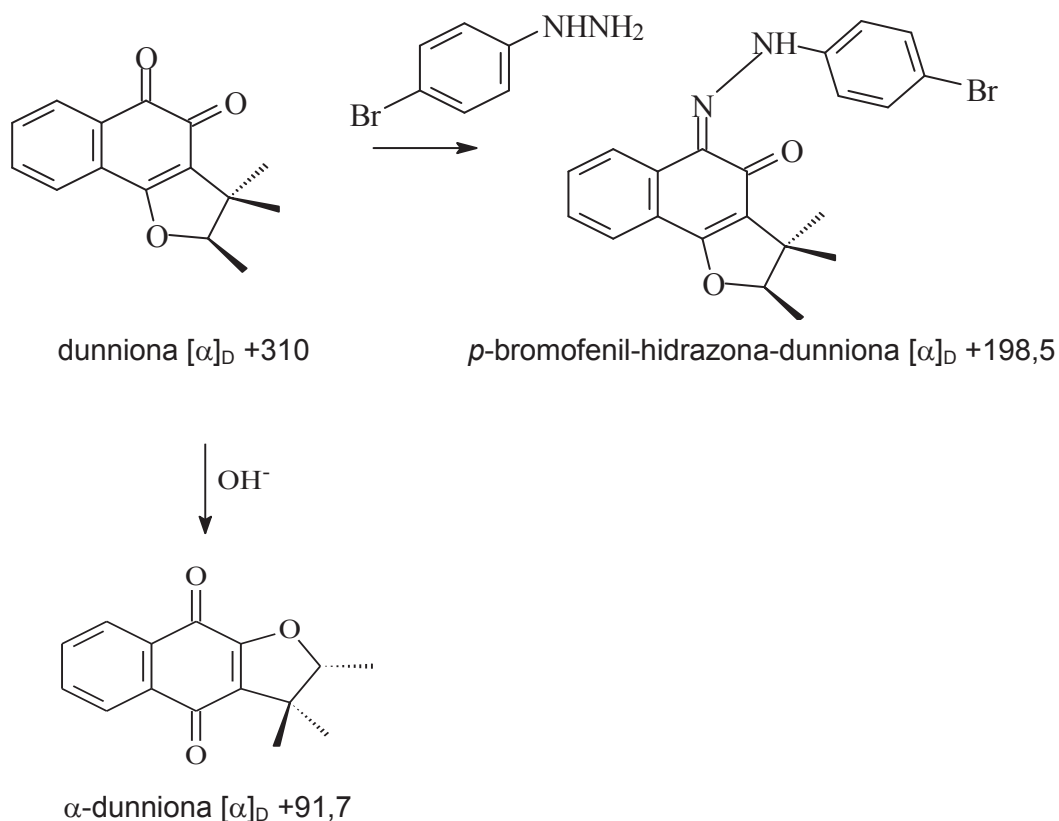
Cooke et al. (2006) apontaram esse erro de representação, e usaram outra abordagem para determinar a configuração absoluta das dunnionas. Partindo da (+)-dunniona enantiomericamente pura, prepararam a (+)-*p*-bromofenil-hidrazona-dunniona (Esquema 2, p. 104). Esta forneceu um monocristal, que foi analisado por cristalografia de raios X, revelando a configuração absoluta *R* e, estabelecendo esta mesma configuração para a (+)-dunniona. A configuração absoluta *R* também foi assinalada para (+)- $\alpha$ -dunniona, considerando a sua obtenção a partir da (+)-dunniona (Esquema 2, p. 104). Baseado nestes resultados, os autores concluíram que os derivados dextrógiros dessas substâncias também têm a configuração absoluta *R*. Nota-se novamente a falta de rigor, pois a introdução de grupos hidroxila e metoxila no anel aromático pode, em teoria, mudar o sinal da rotação específica.

Em resumo, a literatura traz dois artigos básicos determinando a configuração absoluta das dunnionas: o primeiro usando dicroísmo circular (CAI et al., 2005) e o segundo, usando cristalografia de raios X (COOKE et al., 2006). Ambos fazem generalizações a partir da análise de uma substância, sendo que o primeiro artigo é contraditório, e a configuração absoluta deduzida pelo primeiro foi oposta àquela determinada pelo segundo estudo.

Em estudos posteriores relatando o isolamento de dunnionas, a configuração absoluta das naftoquinonas isoladas foi assinalada seguindo um desses artigos. Assim, Sheridan e colaboradores (2011), isolaram dunniona e outros derivados da  $\alpha$ -dunniona em um novo estudo de *Streptocarpus dunnii*, e a configuração absoluta foi assinalada como proposto por Cai e colaboradores (2005). O estudo de cristalografia de raios X foi ignorado em relação à dunniona, e a representação das demais naftoquinonas está invertida (SHERIDAN et al., 2011). Por outro lado, derivados de  $\alpha$ -dunniona isolados de *Didymocarpus hedyotideus* (XIAO et al., 2011) e *Lysionotus pauciflorus* (ZHONG et al., 2013) tiveram suas configurações absolutas assinaladas seguindo os resultados da cristalografia de raios X. Nós também achamos esse trabalho mais confiável, e o adotamos como referência em nossos

trabalhos anteriores (VERDAN et al., 2014; 2015; 2017).

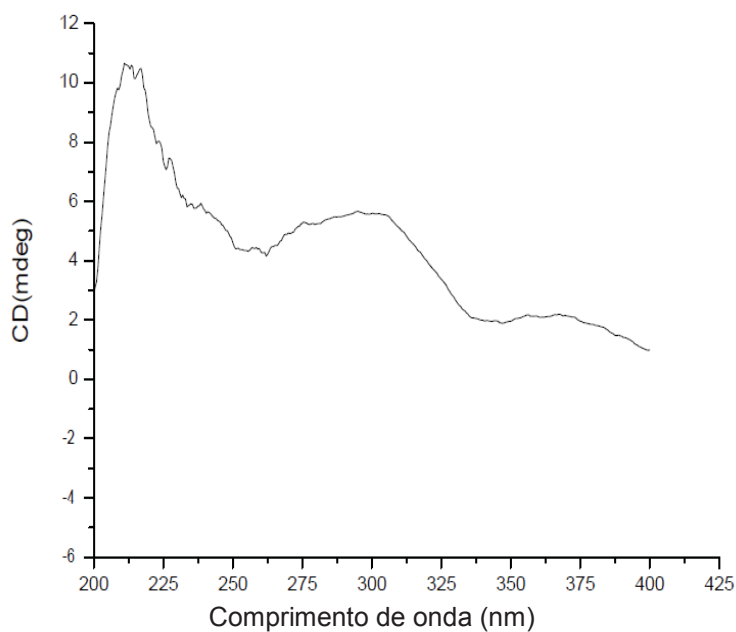
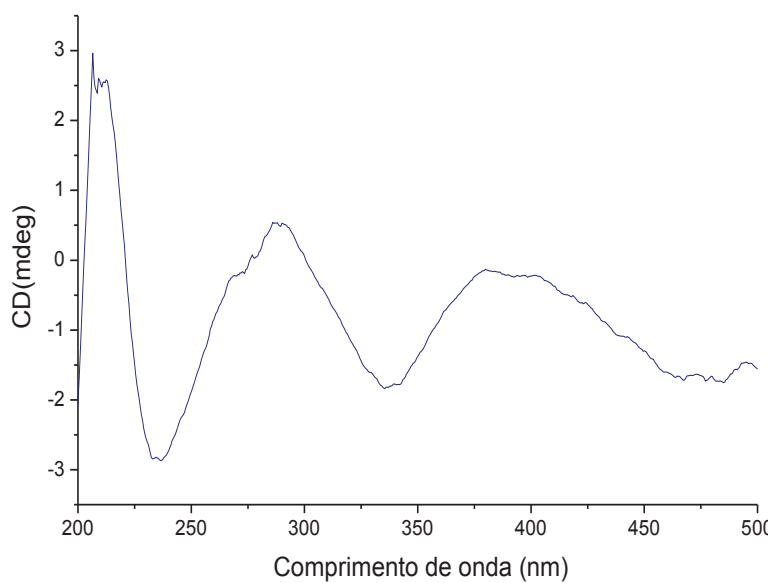
**ESQUEMA 2-** REAÇÕES REALIZADAS COM A DUNNIONA (COOKE et al. (2006).



Fica claro, portanto, que apenas dunniona e  $\alpha$ -dunniona tiveram a sua configuração absoluta determinada sem dúvidas, pela cristalografia de raios X. Para os derivados dessas duas substâncias os estudos disponíveis são insatisfatórios.

No presente trabalho, várias abordagens foram tentadas. Primeiramente, foram obtidos espectros de dicroísmo circular para as naftoquinonas inéditas **SR2** e **SR4**, mas estes não mostraram os efeitos Cotton descritos anteriormente (CAI et al., 2005) (Figuras 67 e 68; p. 105).



**FIGURA 67-** ESPECTRO DE DICROÍSMO CIRCULAR DE **SR2**.**FIGURA 68-** ESPECTRO DE DICROÍSMO CIRCULAR DE **SR4**.

Outra tentativa que falhou foi a obtenção de monocristais. Embora todas as naftoquinonas quirais sejam sólidas, e cristalizem como agulhas (Figura 69; p. 106), os cristais são muito finos e policristalinos, não permitindo a análise por cristalografia de raios X.

**FIGURA 69-** FOTOS DOS CRISTAIS DE **SR4**.



Em vista disso, decidimos usar cálculos computacionais, que têm sido adotados nos últimos anos para resolver problemas de estereoquímica. O programa utiliza a teoria do funcional de densidade (DFT) para prever a rotação ótica e o espectro de dicroísmo circular de substâncias específicas. Os cálculos consideram a molécula na sua conformação de mínima energia (otimização da geometria molecular) e os efeitos de solvente (KWIT, 2009).

Para avaliar a confiabilidade do método este foi aplicado primeiramente à *p*-bromofenil-hidrazona-dunniona, cuja estereoquímica absoluta foi determinada por Raios X. A rotação específica experimental desta substância é +198,5 (COOKE et al., 2006), e o valor calculado pelo programa foi de +213,7. Portanto, o programa calculou o sinal corretamente e o valor numérico com um desvio de 7,6% a maior. Consideramos então que o programa fornece resultados aceitáveis. A seguir, o programa calculou as rotações óticas do isômero 12S de **SR1-SR7**, e estes foram comparados com os valores experimentais, e com dados disponíveis na literatura.

Como pode ser visto na tabela 13, o cálculo computacional previu que todas as naftoquinonas analisadas com a configuração 12S devem ser levógiras. Os valores experimentais também foram negativos e, portanto, as substâncias isoladas foram representadas com a configuração absoluta 12S.

**TABELA 13-** VALORES DE ROTAÇÃO ÓTICA DAS NAFTOQUINONAS **SR1-SR7**.

Substância	Rotação ótica ( $[\alpha]_D$ )		
	Experimental	Calculado <sup>a</sup>	Literatura
<b>SR1</b>	-78	-270	Racêmico (INOUE et al., 1983)
<b>SR2</b>	-13	-317	
<b>SR3</b>	-29	-116	-133 (CAI et al., 2005)
<b>SR4</b>	-228	-268	
<b>SR5</b>	-146	-440	+350 (INOUE et al., 1983)
<b>SR6</b>	-79	-224	
<b>SR7</b>	-23	-261	

<sup>a</sup>valor calculado para o isômero S.

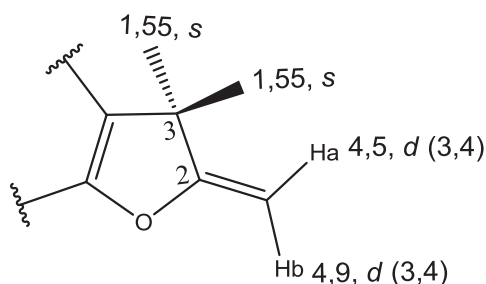
De modo geral, as substâncias quirais de origem natural são biossintetizadas como um único enantiômero. Entretanto, a obtenção de dunnionas com diferentes graus de pureza ótica foi relatada anteriormente (INOUE et al., 1983).

Considerando as substâncias deste trabalho, podemos ver que **SR7** (7-hidroxi-dunniona) foi obtida como uma mistura contendo os dois enantiômeros, mas com predominância do isômero levogiro, que representa 53% do total. Uma situação semelhante ocorre com **SR3**, que é uma mistura escalêmica com 61% do isômero levogiro. Para as demais seria necessária a determinação da pureza ótica, obtendo espectros de RMN com reagentes de deslocamento ou, realizando uma análise cromatográfica com coluna quiral. Uma vez que não dispomos desses recursos, resta fazer uma análise comparativa com os valores teóricos. O alto valor experimental da rotação específica de **SR4**, próximo do valor calculado, sugere que esta substância está enantiomericamente pura. Por outro lado, as demais apresentaram valores experimentais de rotação específica bastante abaixo do valor calculado, sugerindo a sua obtenção como misturas escalêmicas, nas quais predomina o isômero levogiro.

## 5.2. NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 3,3-DIMETIL-2-METILENO-2,3-DIIDROFURANO

Esse grupo difere do anterior por apresentar uma ligação dupla exocíclica em lugar do grupo metila (C-13). Como consequência, os grupos metila geminais tornam-se equivalentes, apresentando no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  um simpleto em torno de  $\delta_{\text{H}}$  1,55, integrando para seis hidrogênios. Por outro lado, os hidrogênios da ligação dupla não são equivalentes, mostrando no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  dois dupletos em  $\delta_{\text{H}}$  4,5 e 4,9 ( $J = 3,4$  Hz). (Figura 70).

**FIGURA 70-** ESTRUTURA DO GRUPO 3,3-DIMETIL-2-METILENO-2,3-DIIDROFURANO, COM OS DESLOCAMENTOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (INOUE et al., 1982).



Duas substâncias contendo esse grupo foram isoladas nesse trabalho: **SR8** e **SR9**. Ambas eram inéditas na literatura.

### 5.2.1- Determinação estrutural de **SR8**

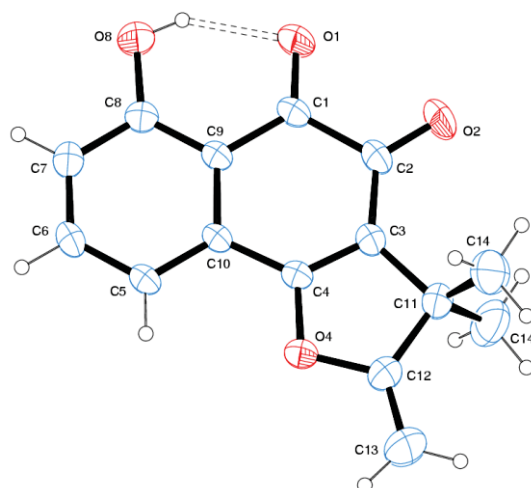
A substância **SR8** foi isolada como um sólido alaranjado. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 257,08077  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , indicando a fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$  para esta substância (Figura 73; p. 111). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 257 nm, característica de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 74; p. 112). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou bandas de absorção em  $1621\text{ cm}^{-1}$  (grupo carbonila insaturado associado com hidroxila) e

1641  $\text{cm}^{-1}$  (grupo carbonila insaturado), além uma banda larga em 3426  $\text{cm}^{-1}$  típica de hidroxila em ligação intramolecular de hidrogênio (Figura 75; p. 112).

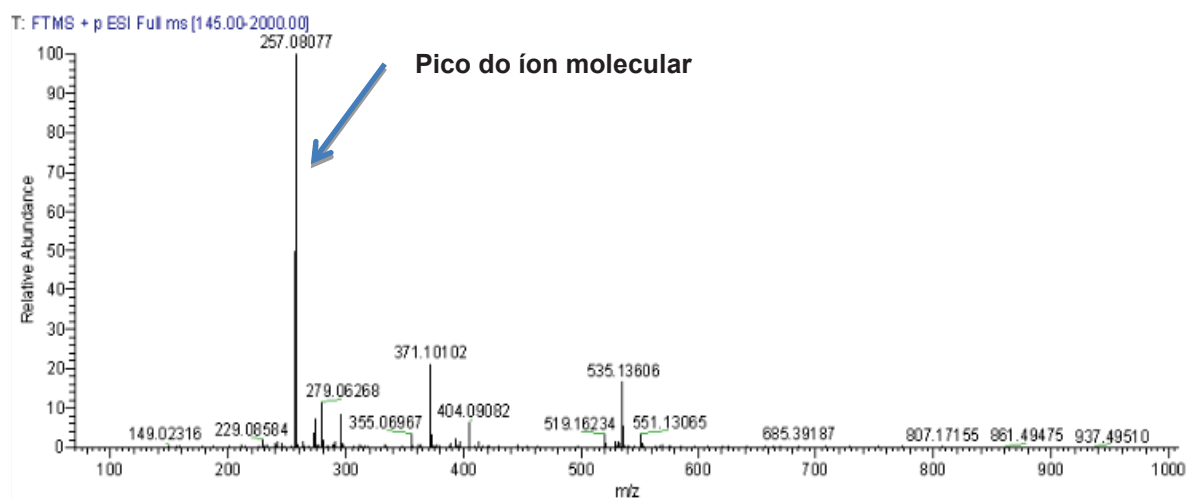
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **SR8** (Tabela 14; p. 110, figuras 76-79; p. 113-114), mostrou sinais de três hidrogênios aromáticos, com multiplicidades e constantes de acoplamento característicos de um anel aromático 1,2,3-trissubstituído ( $\delta_{\text{H}}$  7,13 - 7,57); um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  11,93, típico de uma hidroxila em ligação intermolecular de hidrogênio; dois hidrogênios olefínicos ( $\delta_{\text{H}}$  4,50 e 4,93) de uma ligação dupla terminal, e um simpleto integrando para seis hidrogênios ( $\delta_{\text{H}}$  1,55), indicando dois grupos metila equivalentes. O seu espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 80; p. 115) apresentou sinais de 14 carbonos, sendo cinco deles bastante desprotegidos ( $\delta_{\text{C}}$  164,6, 164,8, 170,9, 174,0 e 184,7), dos quais dois grupos carbonilas ( $\delta_{\text{C}}$  174,0 e 184,7) indicaram uma 1,2-naftoquinona. A análise dos mapas de correlação HSQC e HMBC (Figuras 81 e 82; p. 115-116) mostrou que o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  7,27 (H-5) fazia correlação com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  164,6 (C-4), confirmando o esqueleto de uma 1,2-naftoquinona. Por outro lado, os dois grupos metila equivalentes ( $\delta_{\text{H}}$  1,55, H-14 e H-15) mostraram correlação com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  170,9, que deve ser o carbono quaternário da dupla olefínica terminal (C-12). Portanto, **SR8** é um derivado da dunniona, tendo uma ligação dupla exocíclica em lugar de um grupo metila. A estrutura proposta foi confirmada pelas demais correlações (Tabela 14; p. 110). Uma substância desse tipo, denominada deidrodunniona, foi previamente isolada de *Streptocarpus dunnii* (INOUE et al., 1982; 1983). Sendo assim, **SR8** foi identificada como 8-hidroxideidrodunniona (Figura 71; p. 110). Além disso, um monocristal foi obtido e analisado por cristalografia de raios X, confirmando mais uma vez a estrutura proposta (Figura 72; p. 111).

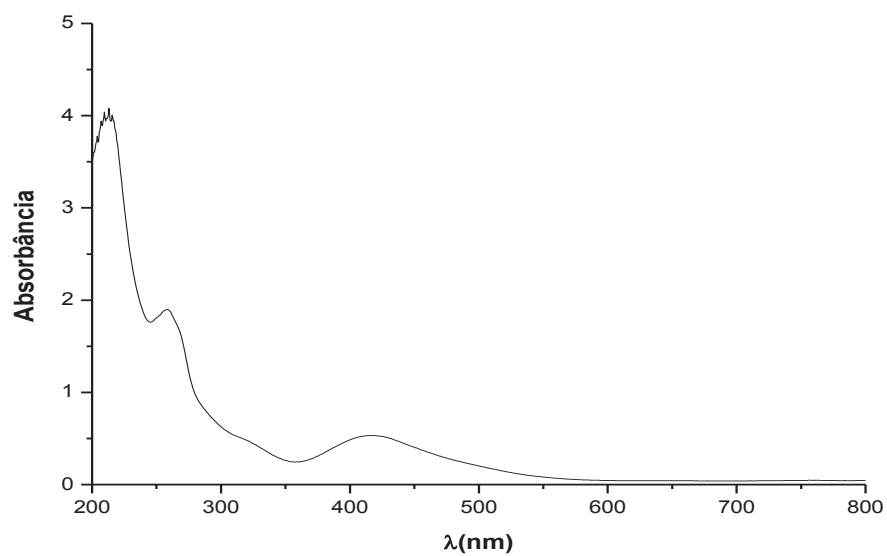
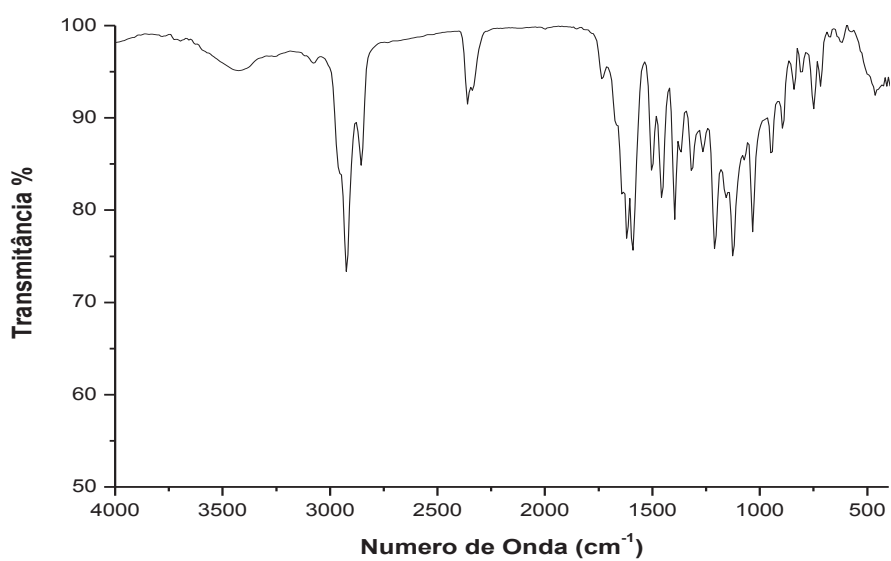


**FIGURA 72-** ILUSTRAÇÃO DA ESTRUTURA DE **SR8** OBTIDA POR CRISTALOGRAFIA DE RAIOS X.



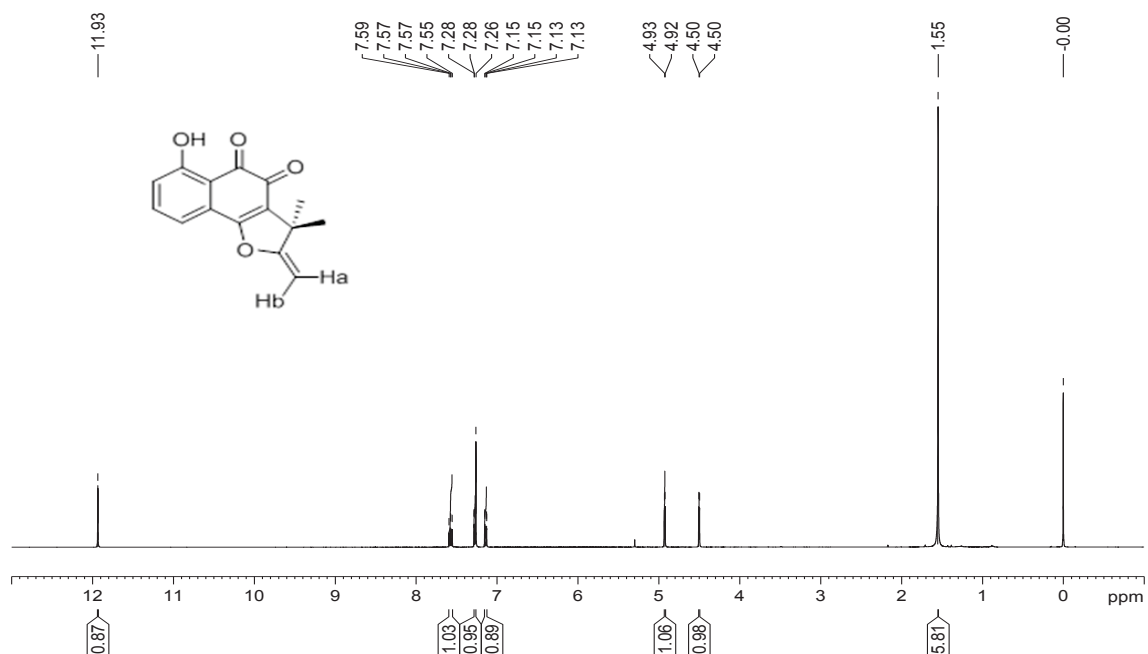
**FIGURA 73-** ESPETRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE **SR8**.



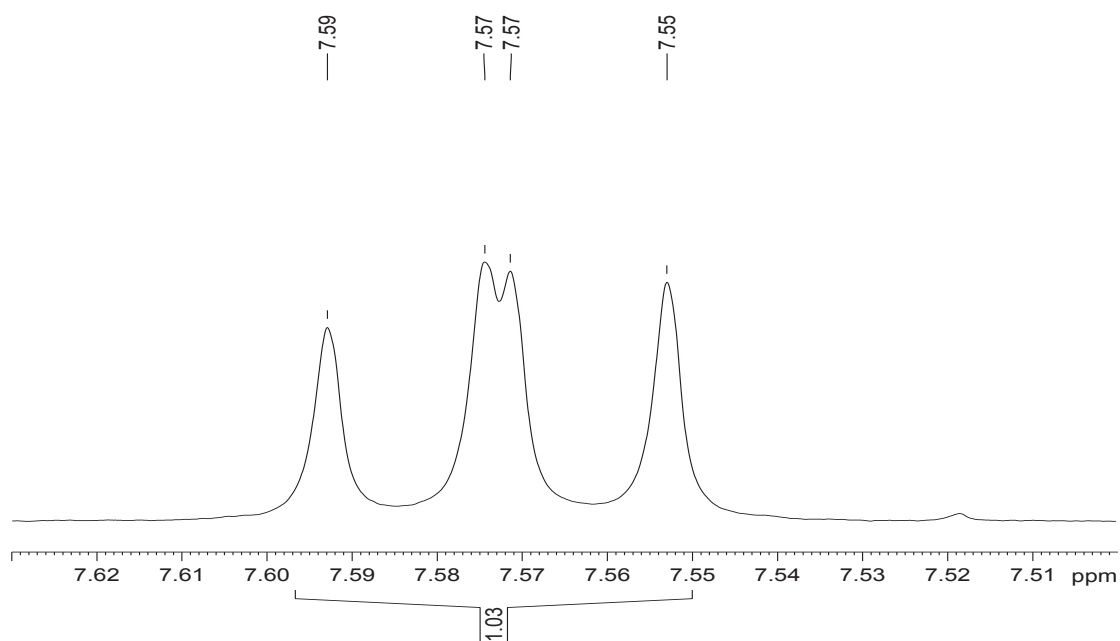
**FIGURA 74- ESPECTRO NO UV-VIS DE SR8.****FIGURA 75- ESPECTRO NO IV DE SR8.**



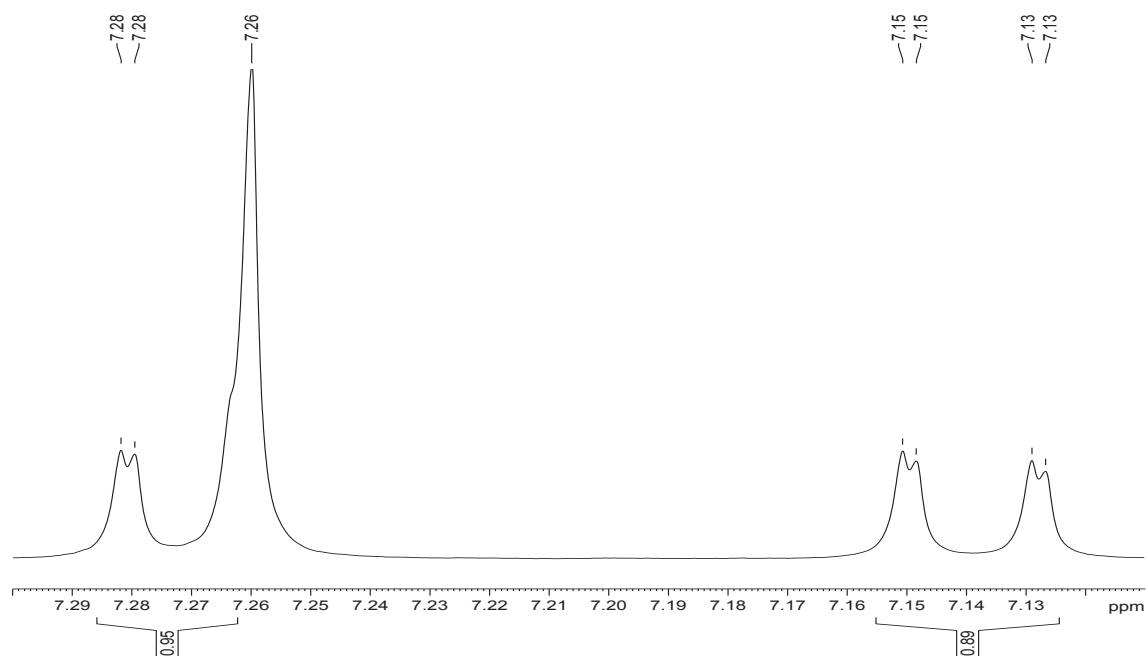
**FIGURA 76-** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SR8** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



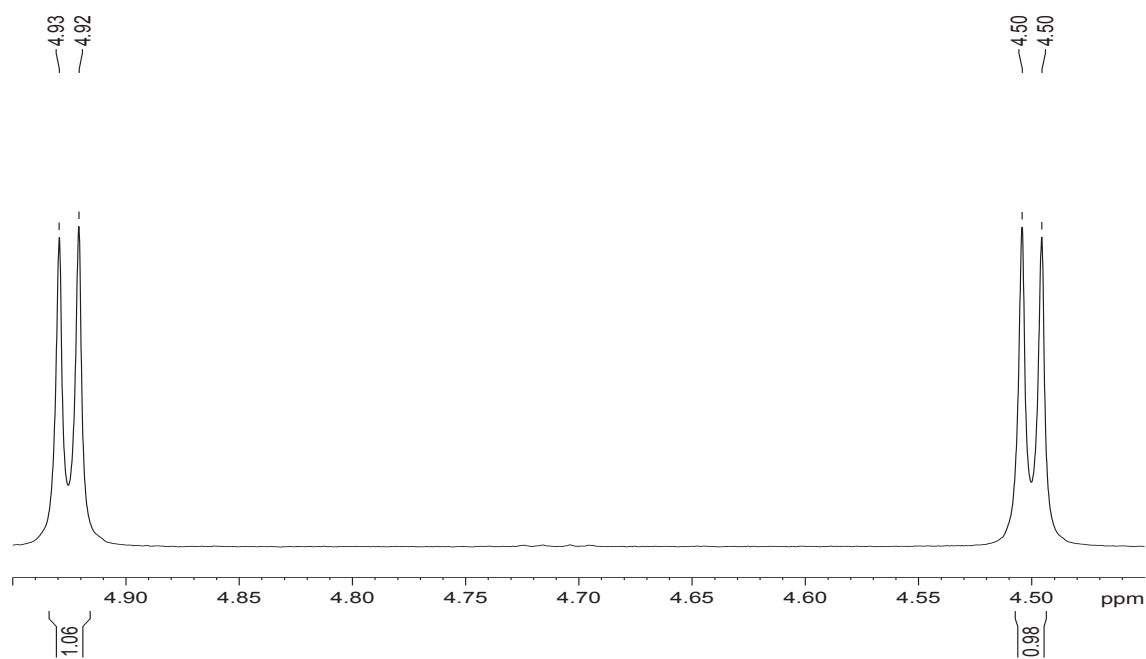
**FIGURA 77-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_{\text{H}}$  7,62 E 7,52 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SR8** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



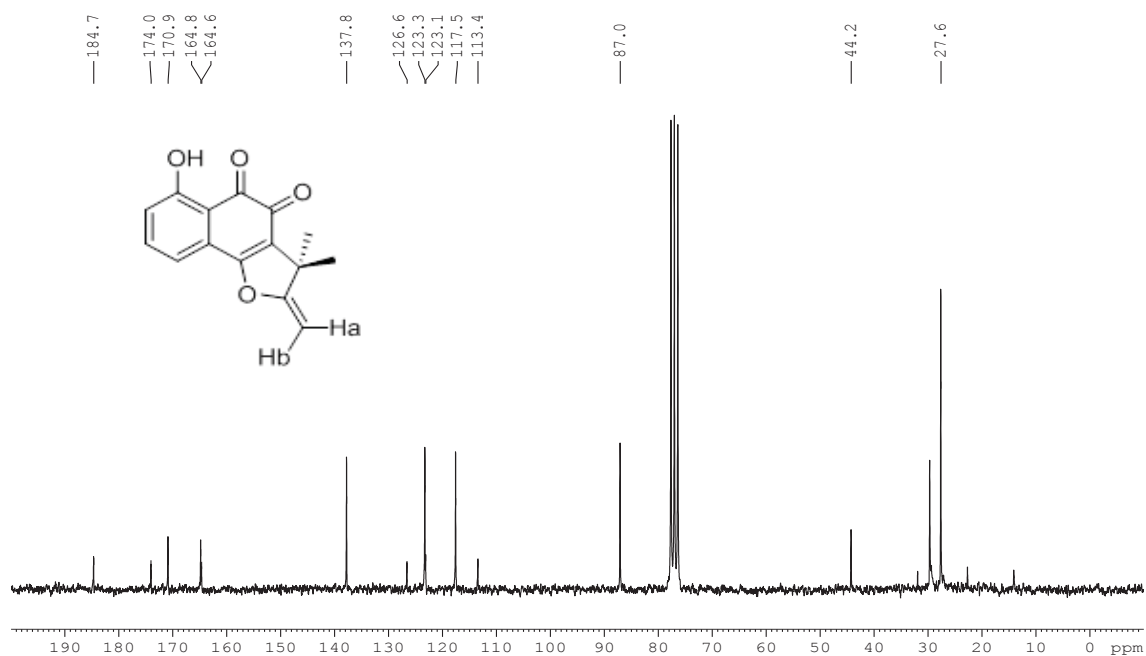
**FIGURA 78-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  7,30 E 7,11 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR8** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



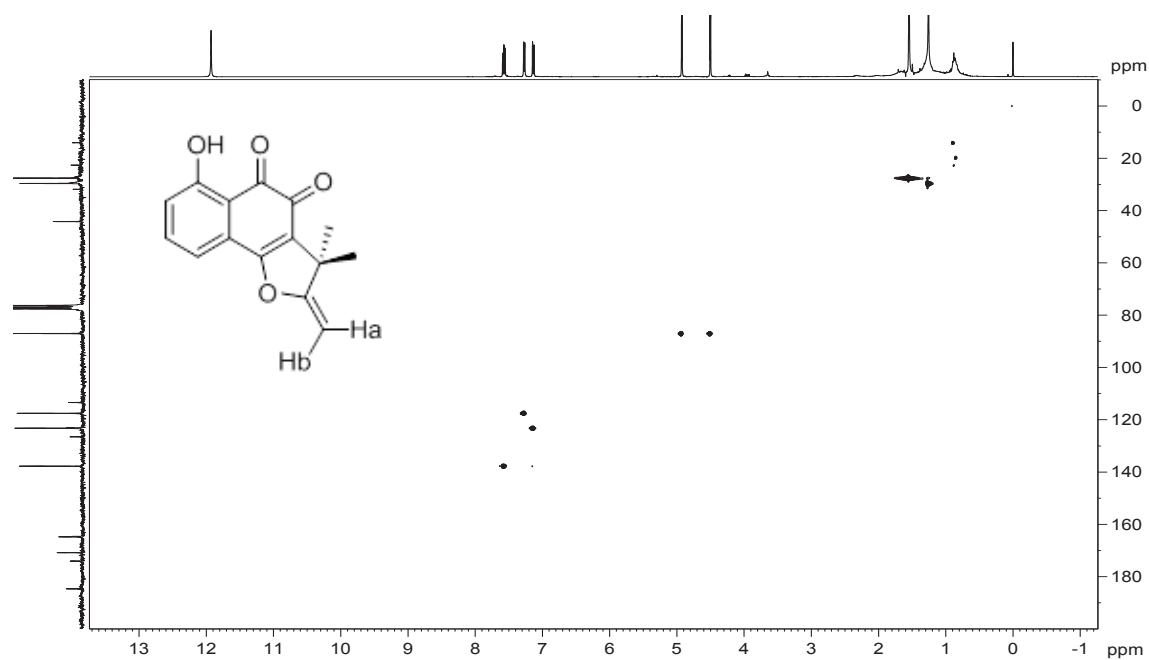
**FIGURA 79-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  4,95 E 4,43 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR8** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



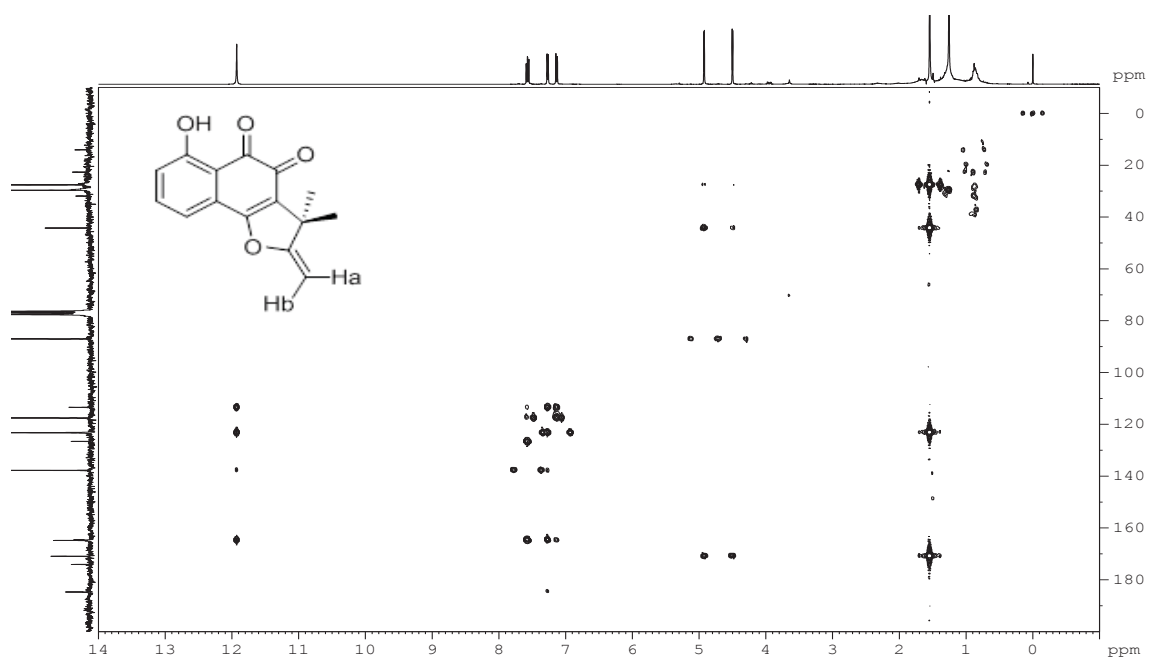
**FIGURA 80-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR8** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



**FIGURA 81-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR8** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



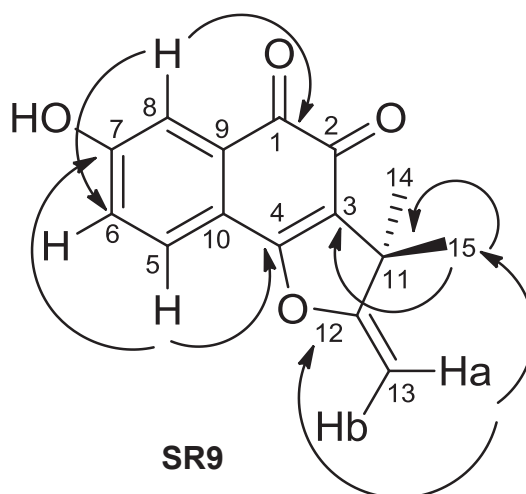
**FIGURA 82-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR8** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 Hz).



### 5.2.2- Determinação estrutural de **SR9**

A substância **SR9** foi isolada como um sólido roxo. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 257,08084  $[M + H]^+$ , indicando a fórmula molecular  $C_{15}H_{12}O_4$  para esta substância (Figura 84; p. 119). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 277 nm, característica de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 85; p. 119). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou uma banda de absorção em  $1646\text{ cm}^{-1}$ , correspondente aos grupos carbonila de uma  $\alpha$ -dicetona insaturada, e uma banda larga e fraca em  $3426\text{ cm}^{-1}$  típica de hidroxila em ligação de hidrogênio intermolecular (Figura 86; p. 120).

O espectro de RMN de  $^1H$  da substância **SR9** (Tabela 15; p. 118, figuras 87-90; p. 120-122) foi muito similar ao da substância **SR8**, diferindo por apresentar os três hidrogênios do anel aromático em um sistema de spin típico de um anel 1,2,4-trissubstituído. Uma vez que não há no espectro de RMN de  $^1H$  sinais que possam ser atribuídos a grupos metoxila ou a outros grupos substituintes, deve haver uma hidroxila em C-6 ou C-7. A sua posição foi determinada pelas correlações observadas no mapa de contorno HMBC (Figura 93; p. 123). As principais correlações foram: H-5 ( $\delta_H$  7,61) com C-4 ( $\delta_C$  166,4), C-7 ( $\delta_C$  160,3), C-9 ( $\delta_C$  132,9), e C-10 ( $\delta_C$  119,1); e H-8 ( $\delta_H$  7,60) com  $\delta_C$  C-1 ( $\delta_C$  181,1) e C-6 ( $\delta_C$  121,2). As demais correlações (Tabela 15; p. 117) confirmaram a estrutura proposta como 7-hidroxi-deidrodunniona, uma substância inédita na literatura.

**FIGURA 83** - ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR9**.**TABELA 15-** DADOS DE RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) DE **SR9**.

Posição	SR9		
	$\delta_H$ (mult., $J$ em Hz)	$\delta_C$	${}^L D J_{H,C}$
1		181,1	
2		174,6	
3		120,8	
4		166,5	
5	7,61 ( <i>d</i> , 8,3)	126,9	4, 7, 9, 10
6	7,13 ( <i>dd</i> , 8,3; 2,0)	121,2	7, 8, 10
7		160,3	
8	7,60 ( <i>d</i> 2,0)	117,5	1, 6
9		132,9	
10		119,1	
11		44,0	
12		171,3	
13a	4,49, ( <i>d</i> , 3,4)	87,0	11, 12, 14, 15
13b	4,92, ( <i>d</i> , 3,4)		
14	1,54 ( <i>s</i> )	27,7	3, 11, 12, 15
15	1,54 ( <i>s</i> )	27,7	3, 11, 12, 14

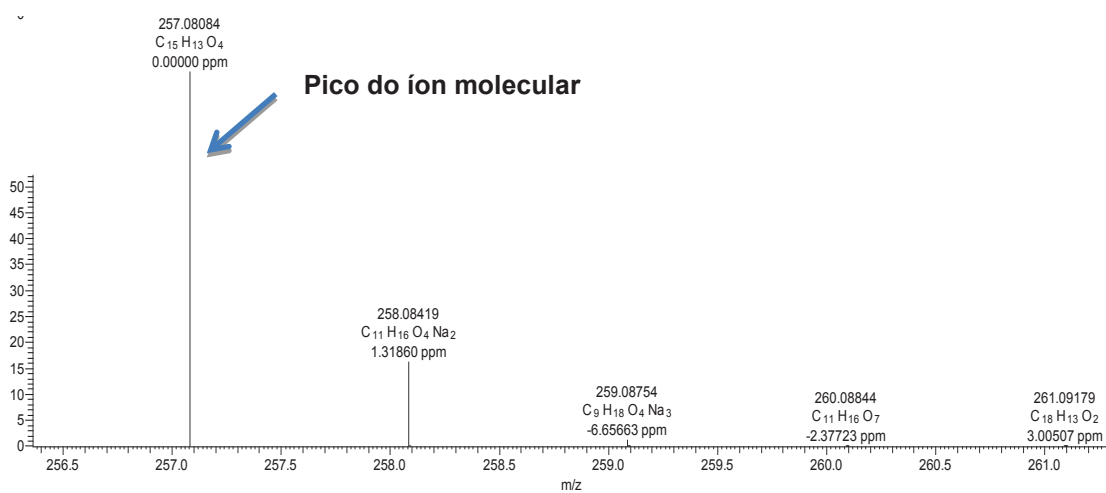
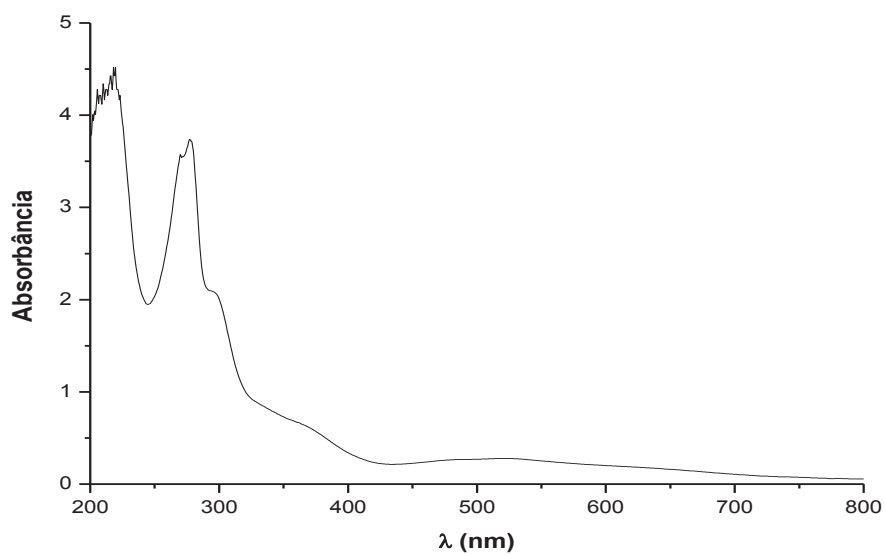
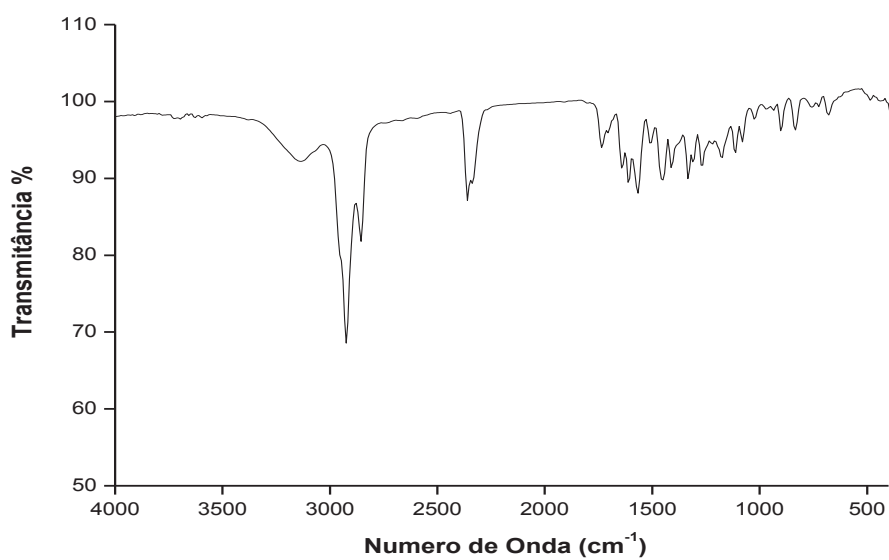
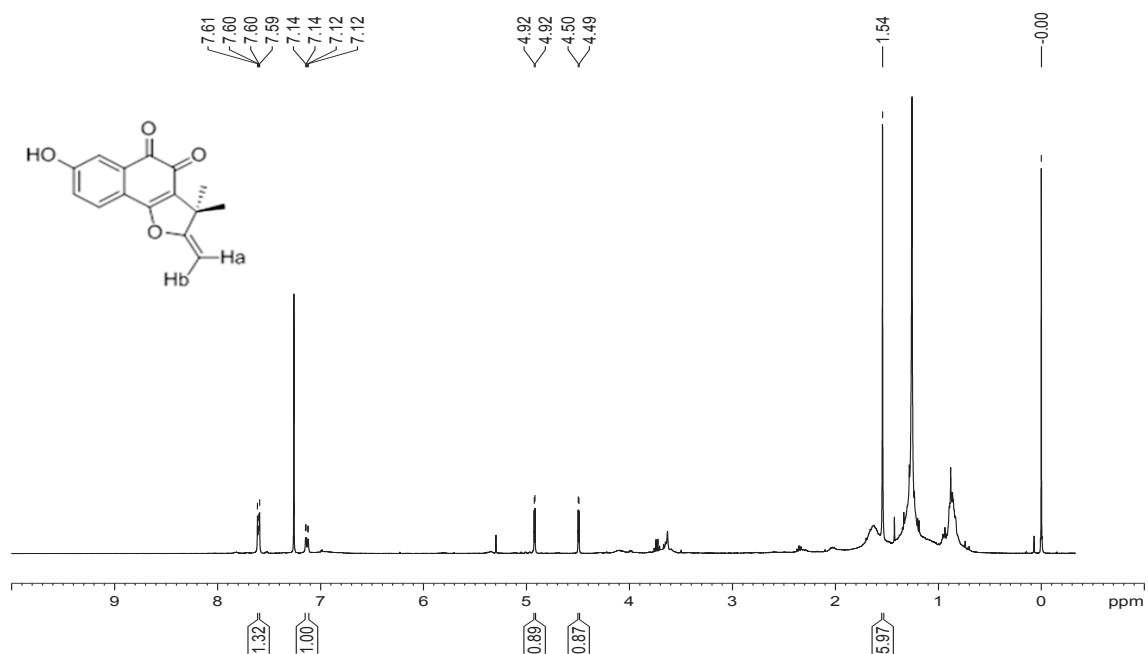
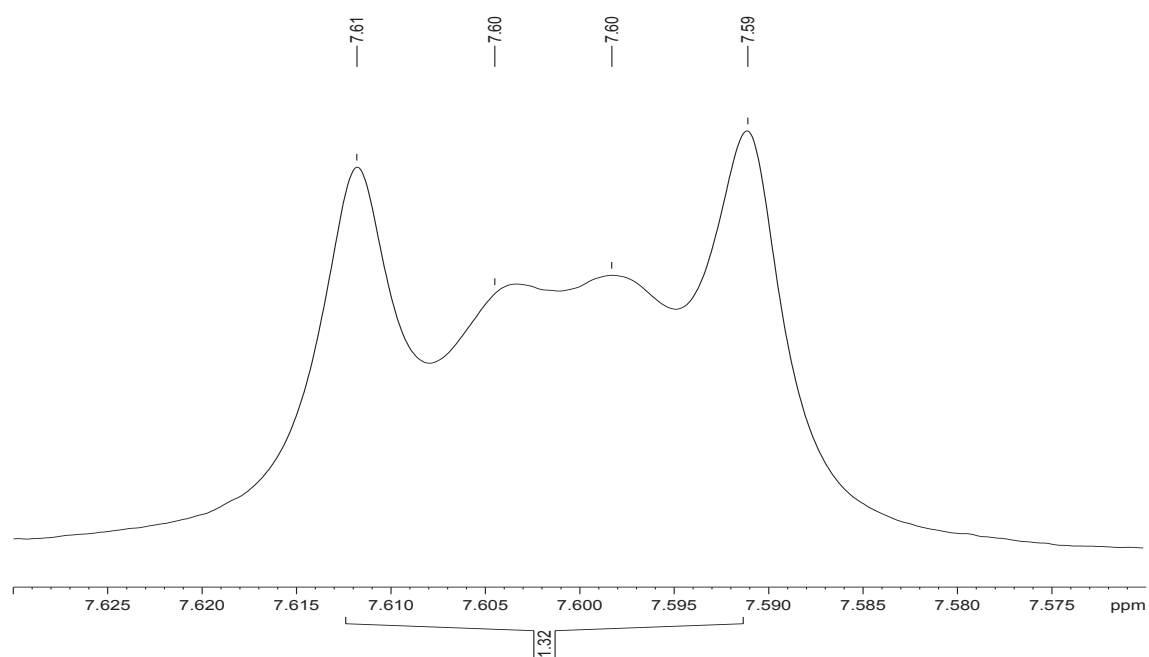
**FIGURA 84-** ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE **SR9**.**FIGURA 85-** ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR9**.

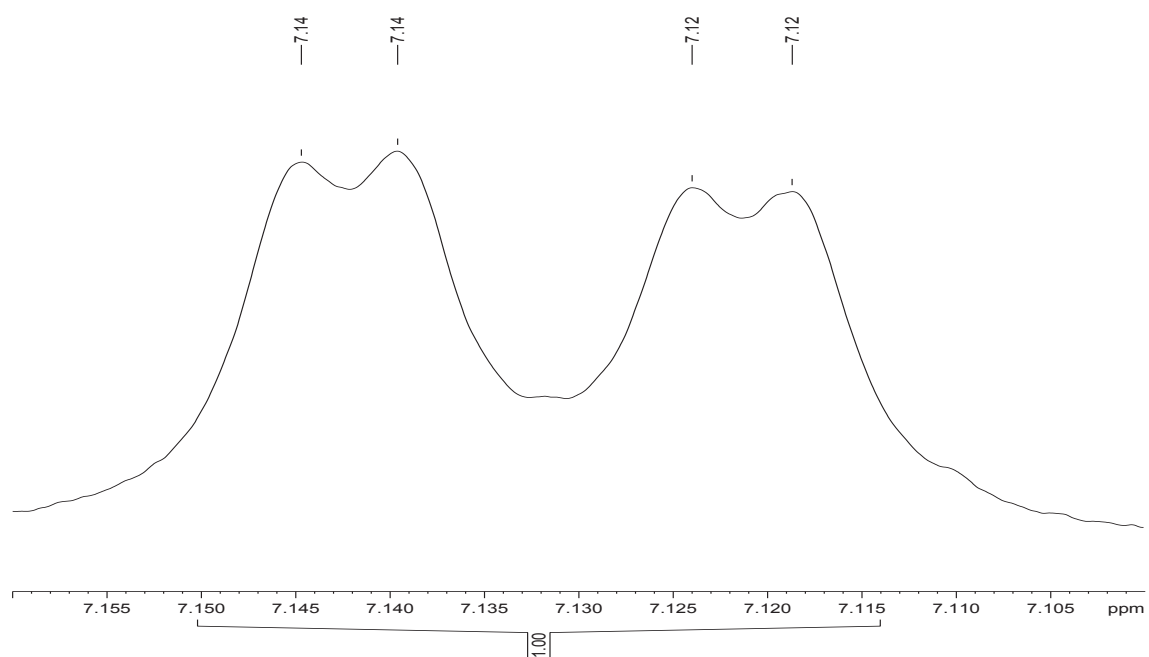
FIGURA 86- ESPECTRO NO IV DE **SR9**.FIGURA 87- ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE **SR9** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



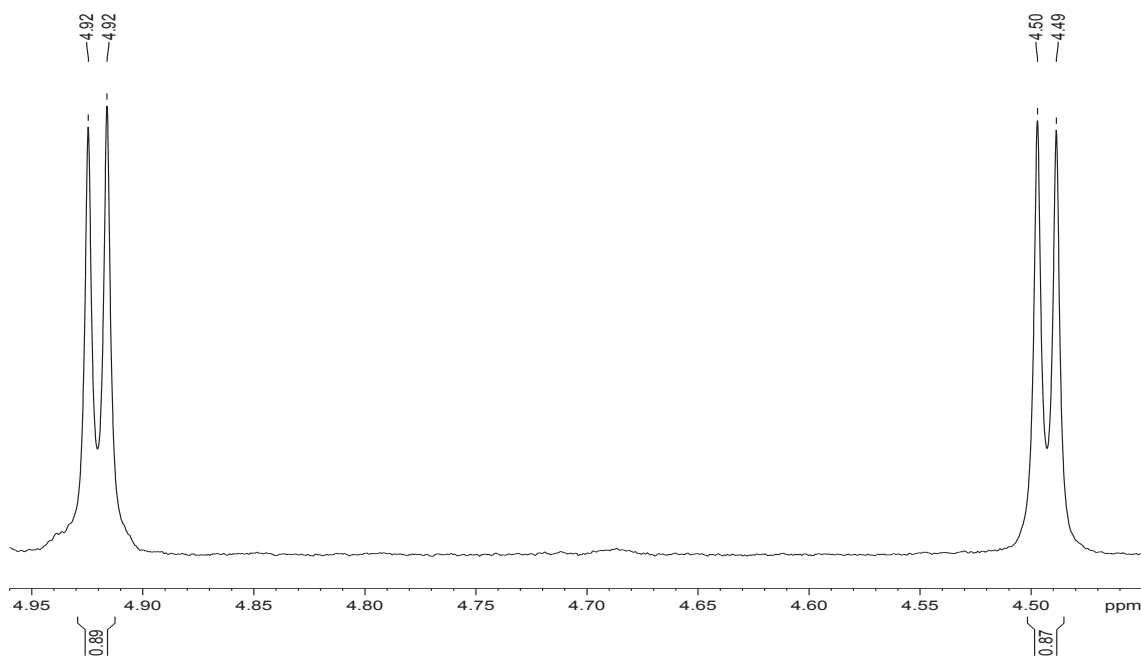
**FIGURA 88-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  7,62 E 7,56 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR9** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



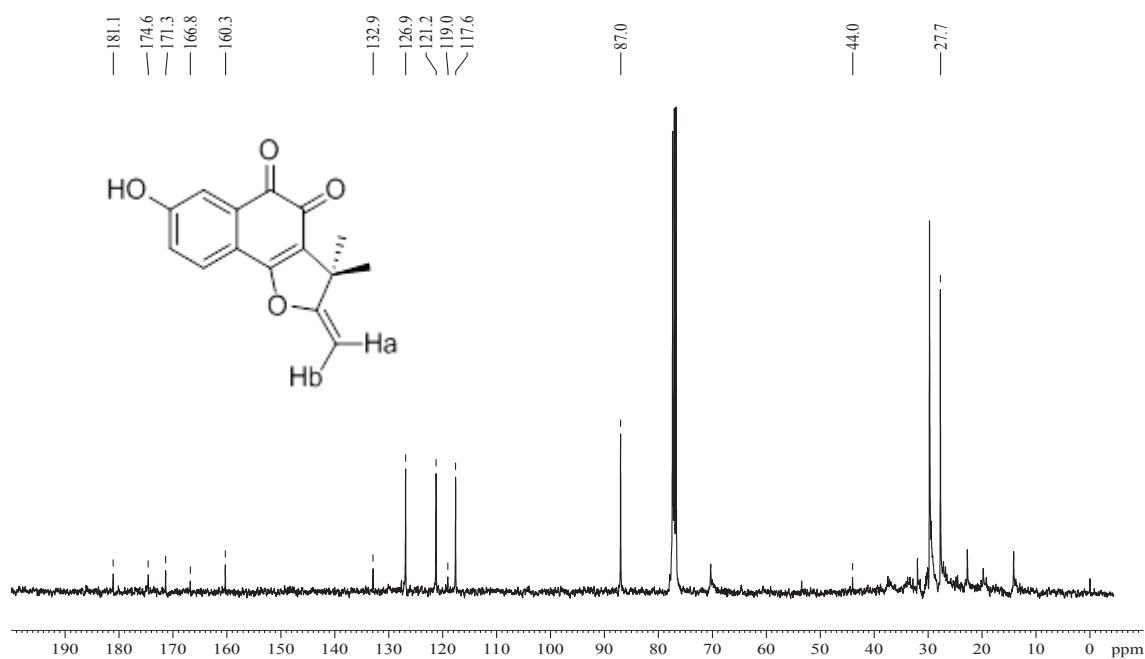
**FIGURA 89-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  7,16 E 7,10 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR9** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



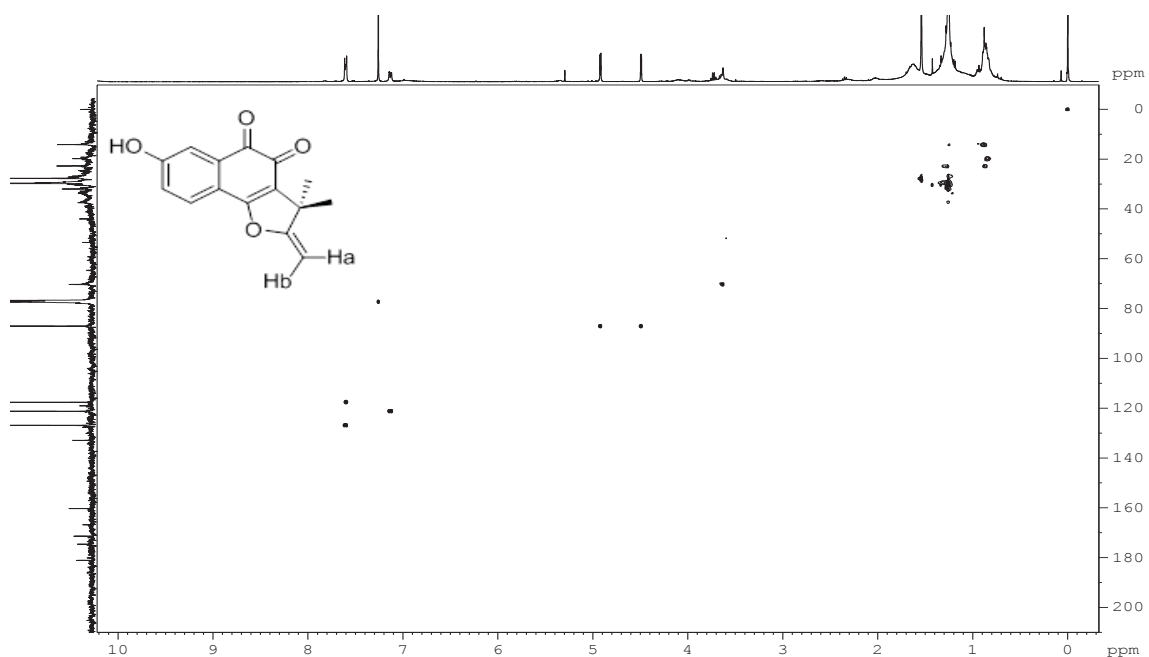
**FIGURA 90-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  4,96 E 4,45 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR9** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



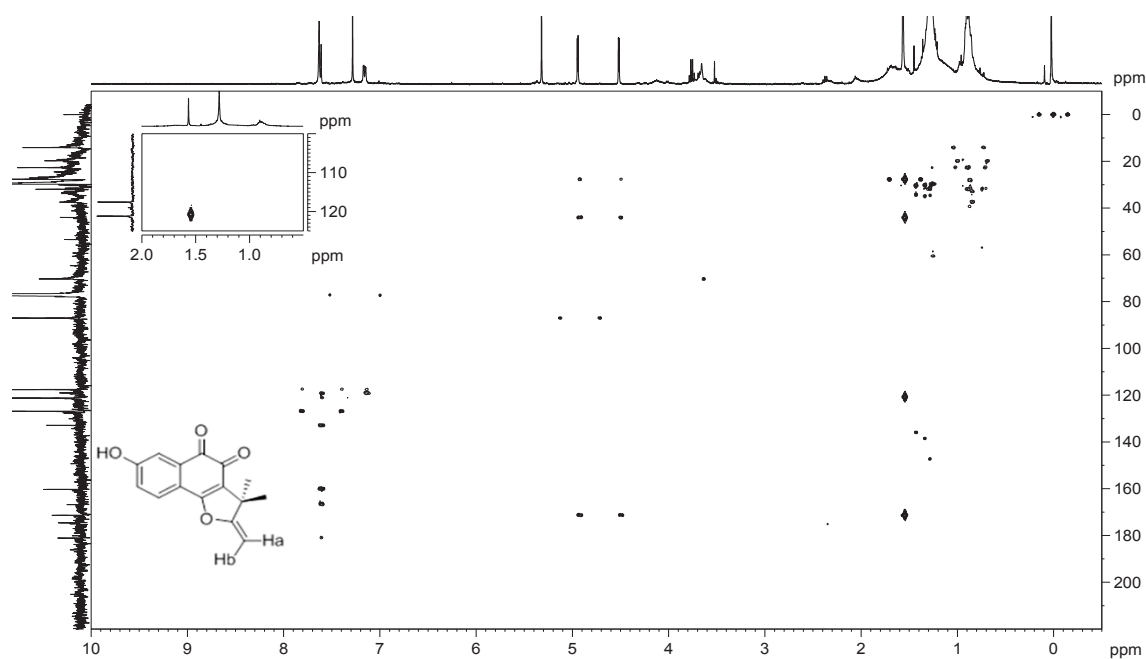
**FIGURA 91-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}C$  DE **SR9** ( $CDCl_3$ , 100 MHz).



**FIGURA 92-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR9** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



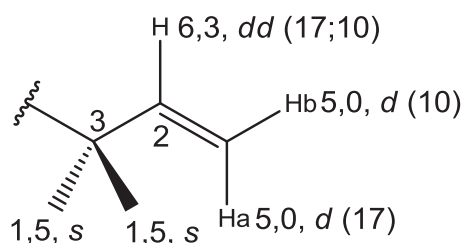
**FIGURA 93-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR9** ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz).



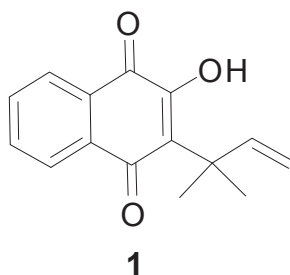
### 5.3- NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 3,3-DIMETILALILA

O grupo 3,3-dimetilalila apresenta no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  um simpleto em torno de  $\delta_{\text{H}}$  1,5, integrando para seis hidrogênios, além de três duplo-dupletos em torno de  $\delta_{\text{H}}$  5,0 e 6,3, referentes aos hidrogênios olefinicos (Figura 94).

**FIGURA 94-** ESTRUTURA DO GRUPO 3,3-DIMETILALILA, COM OS DESLOCAMENTOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (KHAMBAY et al., 1999).



Várias naftoquinonas com o grupo 3,3-dimetilalila são conhecidas, sendo a mais simples o dunniol (**1**, KHAMBAY et al., 1999). Três naftoquinonas derivadas do dunniol foram isoladas dos tubérculos de *S. reitzii* (**SR10**, **SR11**, **SR12**).



#### 5.3.1- Determinação estrutural de **SR10**

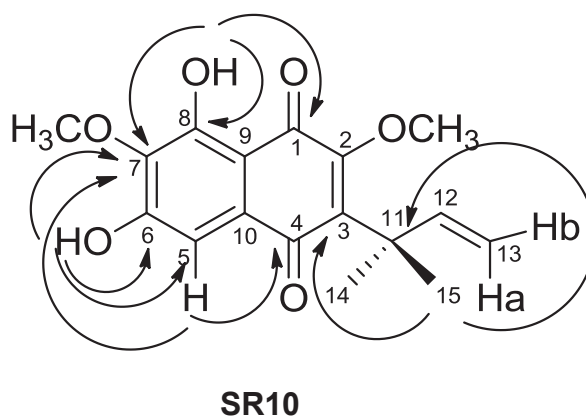
A substância **SR10** foi isolada como um sólido amarelo. O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 268 nm, características de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 96; p. 127). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou bandas de

absorção em  $1628$  e  $1658\text{ cm}^{-1}$ , características de grupos carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturados, e uma banda fraca, alargada na base e fina no topo em  $3448\text{ cm}^{-1}$ , típica de hidroxilas livres e associadas (Figura 97; p. 127).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  da substância **SR10** (Tabela 16; p. 126, Figura 98; p. 128) mostrou apenas um sinal de hidrogênio aromático em  $\delta_{\text{H}} 7,15$ , indicando um anel pentassubstituído. Também foram observados sinais de hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}} 6,20$  (*dd*, 17,4; 10,3), 4,93 (*d*, 17,4) e 4,90 (*d*, 10,3), e de dois grupos metilas equivalentes em  $\delta_{\text{H}} 1,50$  (*s*), caracterizando a presença de um grupo 3,3-dimetilalila. Foram ainda observados dois simpletos em  $\delta_{\text{H}} 3,92$  e 4,08, referentes a duas metoxilas, e dois simpletos em  $\delta_{\text{H}} 6,41$  e 12,09, referentes a duas hidroxilas, sendo o último típico de uma hidroxila em ligação de hidrogênio intramolecular. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 99; p. 128) foram observados, entre outros, dois sinais em  $\delta_{\text{C}} 184,7$  e 185,9, correspondentes a dois grupos carbonila. Estes e os demais dados indicaram uma naftoquinona derivada do dunniol (**1**, KHAMBAY et al., 1999).

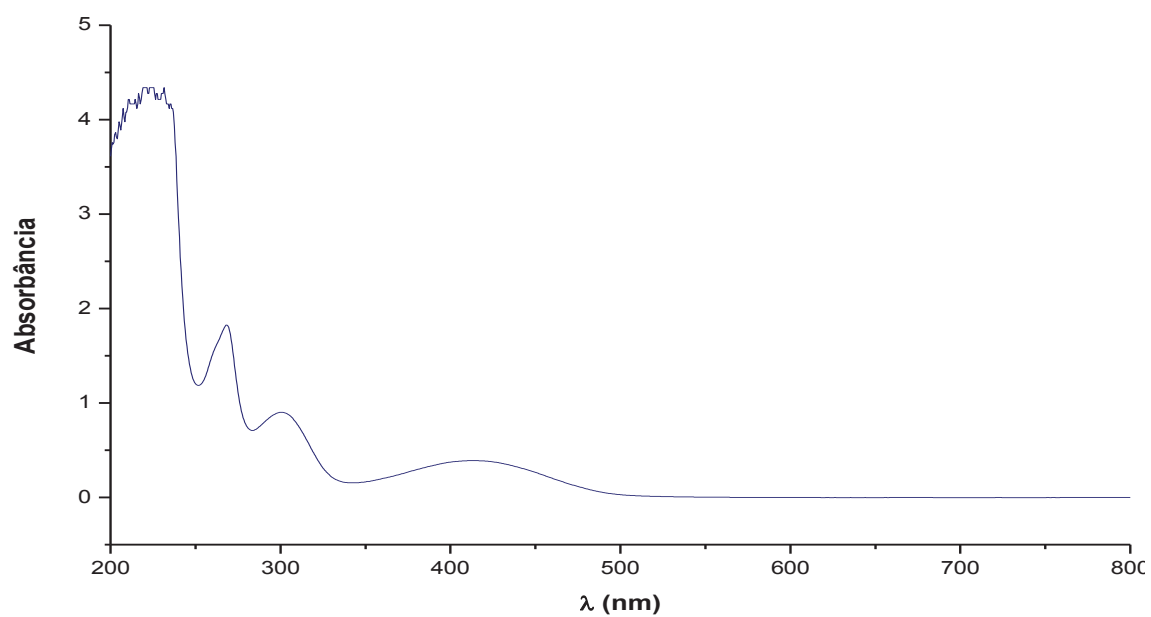
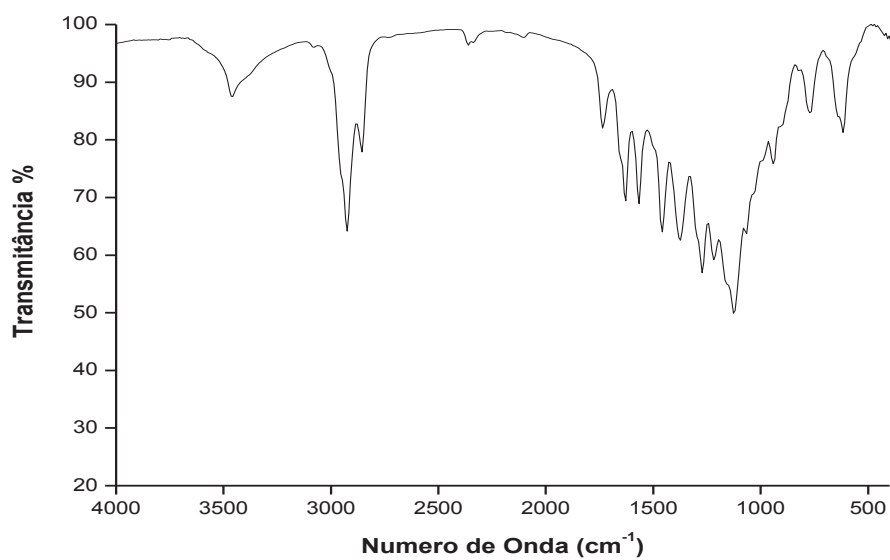
Os mapas de correlação a uma ligação (Figura 100; p. 129) e a longa distância (Figura 101; p. 128), bem como a comparação com dados da literatura permitiram identificar **SR10** como 2,7-dimetoxi-3-(1,1-dimetilalil)-6,8-diidroxil-1,4-naftoquinona (2-O-metil-7-metoxi-6,8-diidroxidunniol) (Figura 95; p. 125). As principais correlações foram: H-5 ( $\delta_{\text{H}} 7,15$ ) com C-4 ( $\delta_{\text{C}} 184,7$ ), C-7 ( $\delta_{\text{C}} 137,6$ ) e C-9 ( $\delta_{\text{C}} 109,6$ ); e H-12 ( $\delta_{\text{H}} 6,20$ ) com  $\delta_{\text{C}}$  C-11 ( $\delta_{\text{C}} 41,5$ ) e C-14/C-15 ( $\delta_{\text{C}} 28,2$ ). Esse composto foi previamente isolado da espécie *Lysionotus pauciflorus* (ZHONG et al., 2013).

**FIGURA 95-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR10**.

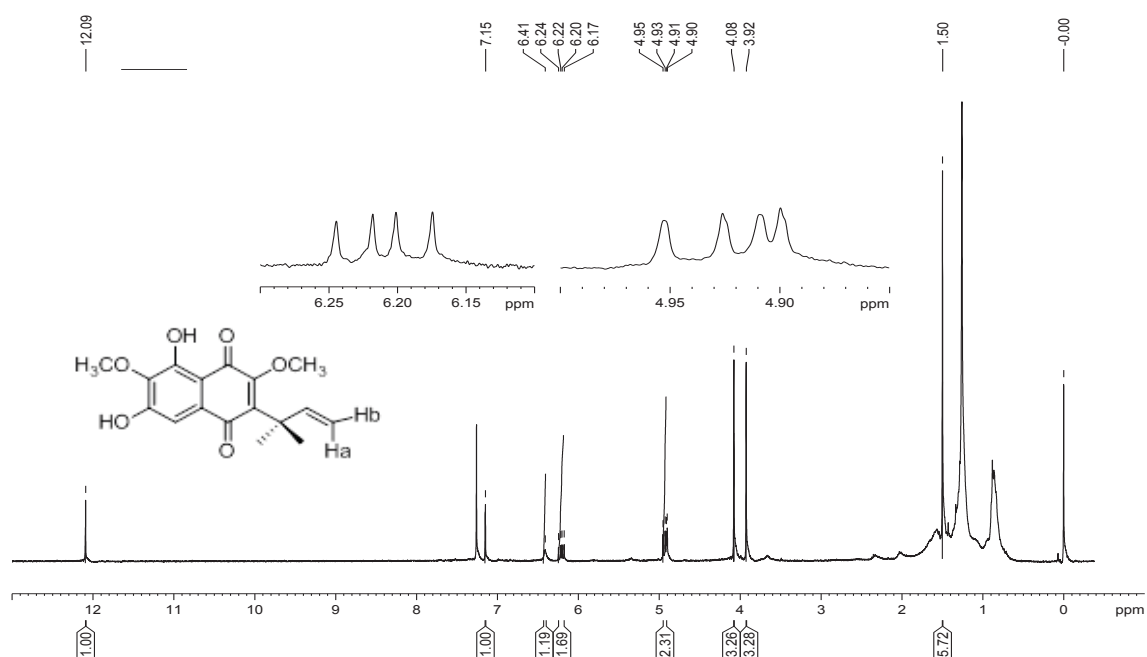


**TABELA 16** – DADOS DE RMN DE **SR10** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) EM COMPARAÇÃO COM OS DADOS DA LITERATURA PARA **2-O-METIL-7-METOXI-6,8-DIIDROXIDUNNIOL** (acetona-D<sub>6</sub>, 400 MHz, ZHONG et al., 2013).

Posição	SR10			2-O-metil-7-metoxi-6,8-diidroxidunniol	
	$\delta_H$ (mult., J em Hz)	$\delta_C$	$^LJ_{H,C}$	$\delta_H$ (mult., J em Hz)	$\delta_C$
1	-	185,9		-	184,7
2	-	158,1		-	157,7
3	-	142,8		-	142,0
4	-	184,7		-	184,8
5	7,15 (s)	107,7	4, 7, 9	7,01 (s)	108,8
6	-	155,0		-	158,0
7	-	137,6		-	138,0
8	-	154,2		-	154,3
9	-	109,6		-	108,7
10	-	129,7		-	129,0
11	-	41,5		-	40,9
12	6,20 (dd, 17,4; 10,3)	148,4	11, 14, 15	6,21 (dd, 7,6, 11,6)	148,7
13a	4,93 (d, 17,4);	108,6	11, 12	4,92 (d, 11,6);	107,6
13b	4,90 (d, 10,3)			4,84 (d, 7,6)	
14	1,50 (s)	28,2	3, 11, 12, 13, 15	1,48 (s)	27,7
15	1,50 (s)	28,2	3, 11, 12, 13, 14	1,48 (s)	27,7
6-OH	6,41 (s)	-	5, 6, 7		-
8-OH	12,09 (s)	-	7, 8, 9		-
2-OCH <sub>3</sub>	3,92 (s)	61,1	2	3,95 (s)	60,8
7-OCH <sub>3</sub>	4,08 (s)	61,5	7	3,91 (s)	59,8

**FIGURA 96- ESPECTRO NO UV-VIS DE SR10.****FIGURA 97- ESPECTRO NO IV DE SR10.**

**FIGURA 98-** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SR10** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 99-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR10** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

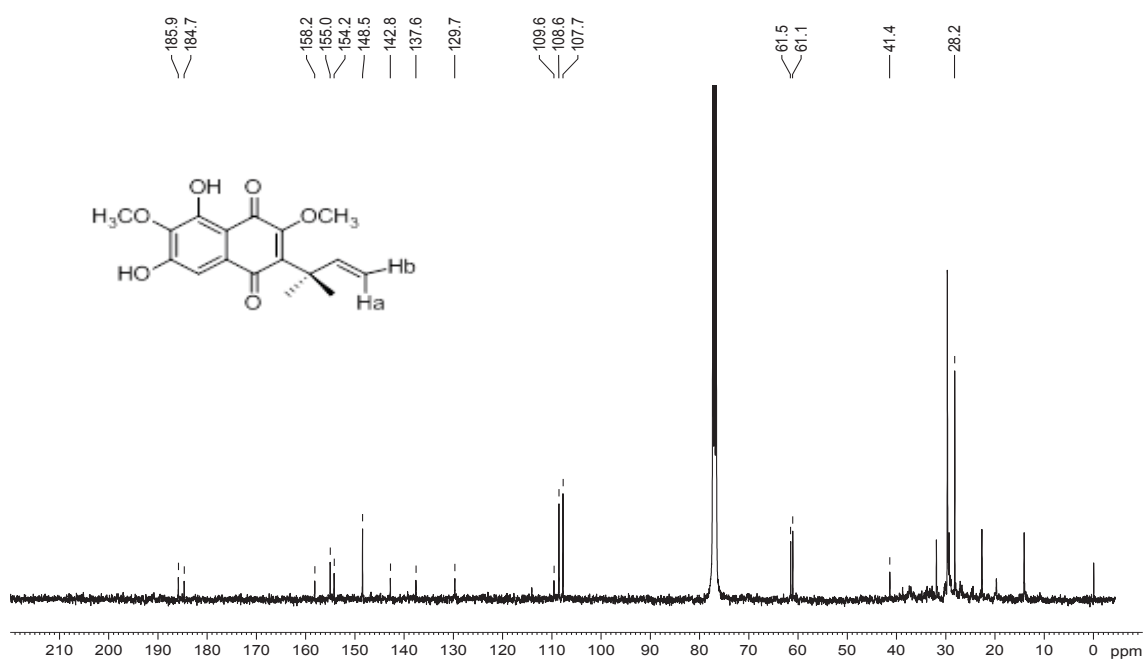




FIGURA 100- MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR10** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

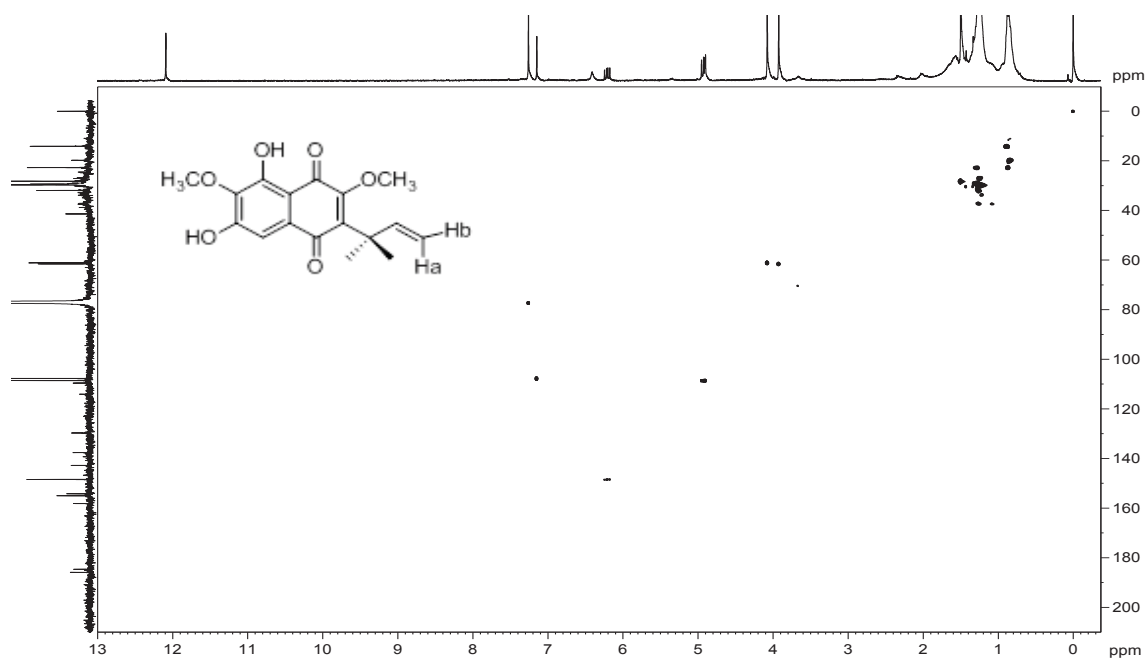
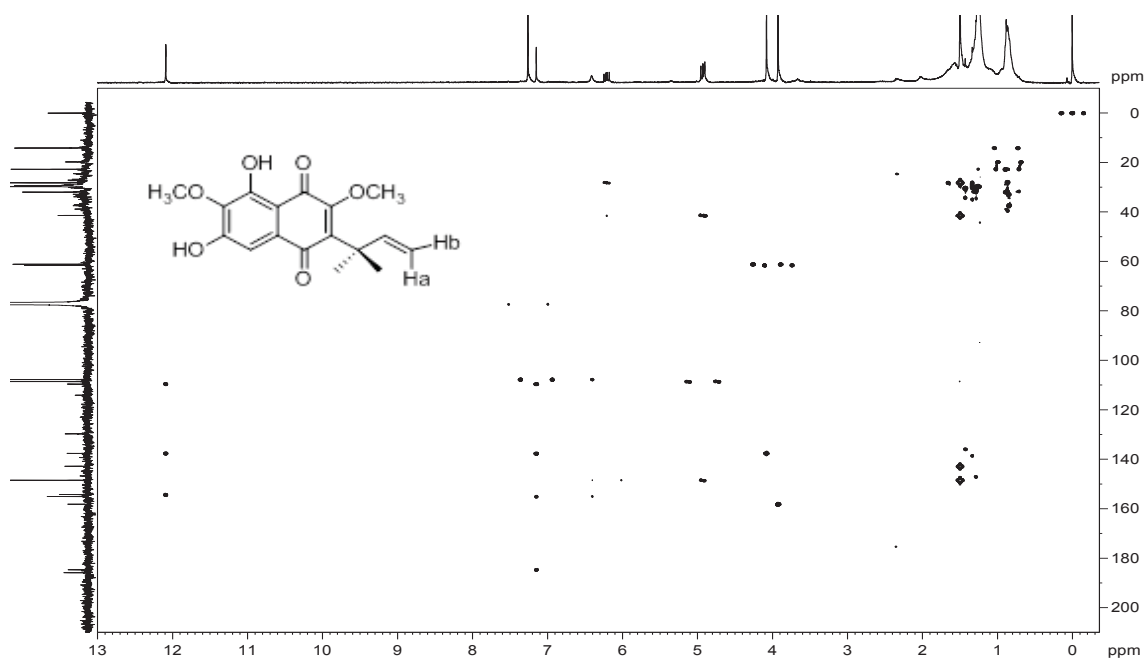


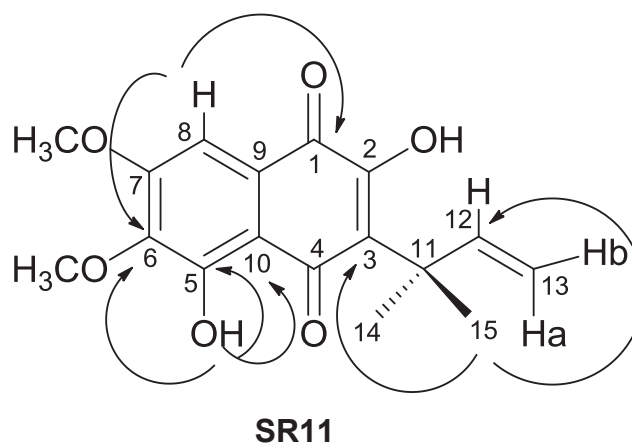
FIGURA 101- MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR10** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



### 5.3.2- Determinação estrutural de **SR11**

A substância **SR11** foi isolada como um sólido amarelo. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 319,11705  $[M + H]^+$ , indicando a fórmula molecular  $C_{17}H_{18}O_6$  para esta substância (Figura 103; p. 132). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 263 nm, característica de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 104; p. 132). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou uma banda de absorção entre  $1633\text{ cm}^{-1}$  característica de grupos carbonila de quinonas, e uma banda larga em  $3414\text{ cm}^{-1}$  típica de hidroxila associada (Figura 105; p. 133).

O espectro de RMN  $^1H$  (Tabela 17; p. 131, figuras 106-109; p. 133-135) mostrou somente um sinal de hidrogênio aromático em  $\delta_H$  7,25, indicando um anel benzênico pentassubstituído. Também foram observados sinais de hidrogênios olefínicos em  $\delta_H$  6,27 (*dd*, 17,5; 10,5), 4,99 (*d*, 17,5) e 4,96 (*d*, 10,5), e de dois grupos metila equivalentes em  $\delta_H$  1,56 (*s*), caracterizando a presença de um grupo 3,3-dimetilalila. Foram ainda observados dois simpletos em  $\delta_H$  3,98 e 4,00, referentes a duas metoxilas, e um simpleto em  $\delta_H$  12,74, típico de uma hidroxila em ligação intramolecular de hidrogênio. No mapa de correlação HMBC os grupos metoxila ( $\delta_H$  4,00 e 3,98) mostraram correlações com os carbonos em  $\delta_C$  143,9 e 156,5, respectivamente. O hidrogênio aromático ( $\delta_H$  7,25) mostrava correlações com os carbonos em  $\delta_C$  111,2, 143,9, 156,5 e 181,0. Este último é típico de C-1 no esqueleto do dunniol (**5**, KHAMBAY et al., 1999), e portanto o hidrogênio aromático está em C-8, os grupos metoxila em C-6 e C-7, e a hidroxila em ligação de hidrogênio em C-5. Analisando as demais correlações a substância **SR11** foi identificada como 5-hidroxi-6,7-dimetoxidunniol (Figura 102; p. 131), uma substância inédita. Nessa estrutura não é possível atribuir todos os deslocamentos químicos da cadeia carbônica através apenas dos mapas de correlação HSQC e HMBC (Figuras 111 e 112; p. 136). É necessário um espectro de RMN de  $^{13}C$ , mas nesse caso a massa obtida foi insuficiente para a obtenção desse espectro. Por essa razão os dados de carbono foram completados a partir do espectro de RMN de  $^{13}C$  da mistura de **SR2** (que foi também isolada pura) e **SR11** (Figura 110; p. 135). Neste espectro observa-se um sinal em  $\delta_C$  190,9, que é compatível com o grupo carbonila em C-4, que está associado com a hidroxila em C-5.

**FIGURA 102-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR11****TABELA 17-** DADOS DE RMN DE **SR11** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz).

Posição	SR11		
	$\delta_H$ (mult., $J$ em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$
1	-	181,0	
2	-	156,5	
3	-	127,0	
4	-	190,9	
5	-	156,0	
6	-	143,9	
7	-	156,5	
8	7,25 (s)	103,5	1, 6, 10
9	-	123,6	
10	-	111,2	
11	-	41,0	
12	6,27 (dd, 17,5; 10,5)	148,2	11, 14, 15
13a	4,99 (d, 17,5);	109,8	11, 12
13b	4,96 (d, 10,5)		
14	1,56 (s)	28,6	3, 11, 12, 15
15	1,56 (s)	28,6	3, 11, 12, 14
5-OH	12,74 (s)	-	5, 6, 10
6-OCH <sub>3</sub>	4,00 (s)	61,1	6
7-OCH <sub>3</sub>	3,98 (s)	56,5	7

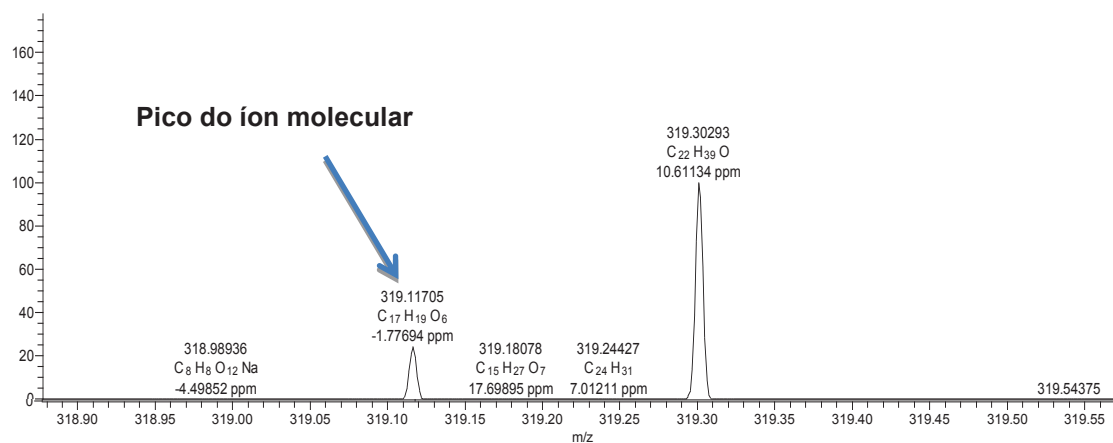
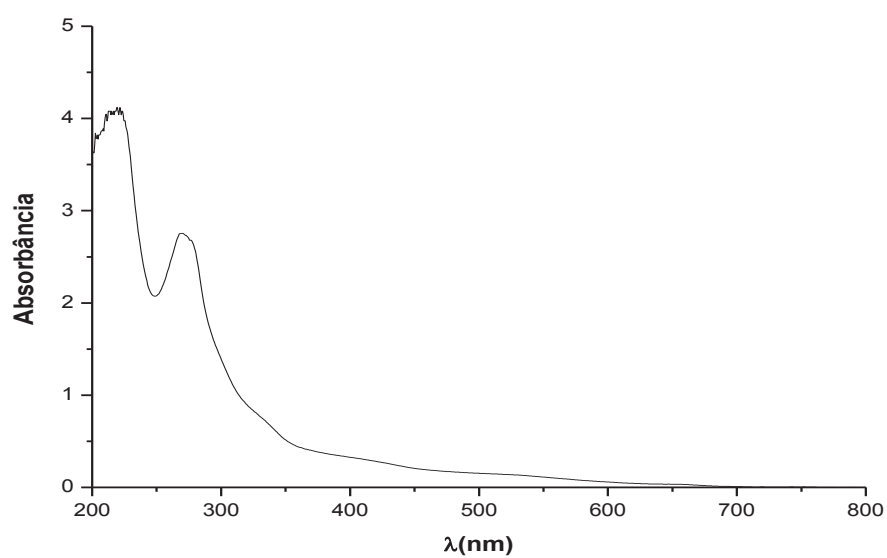
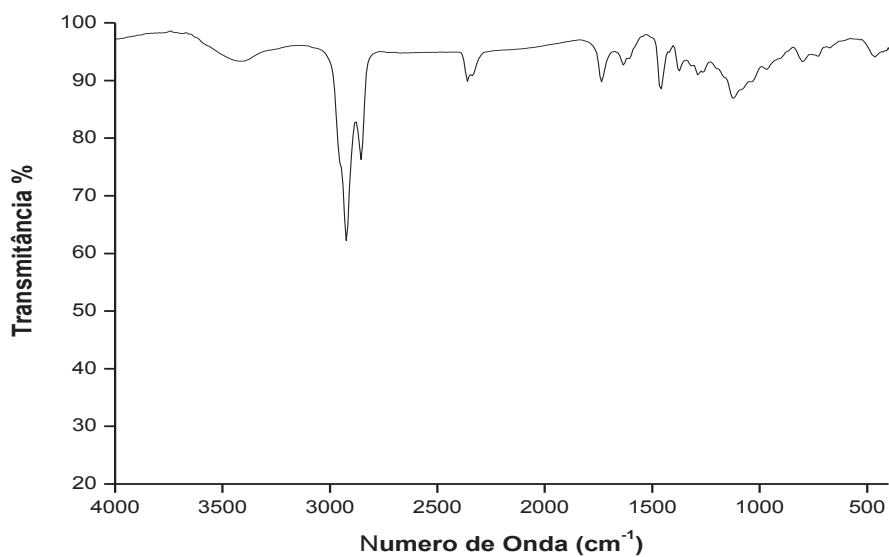
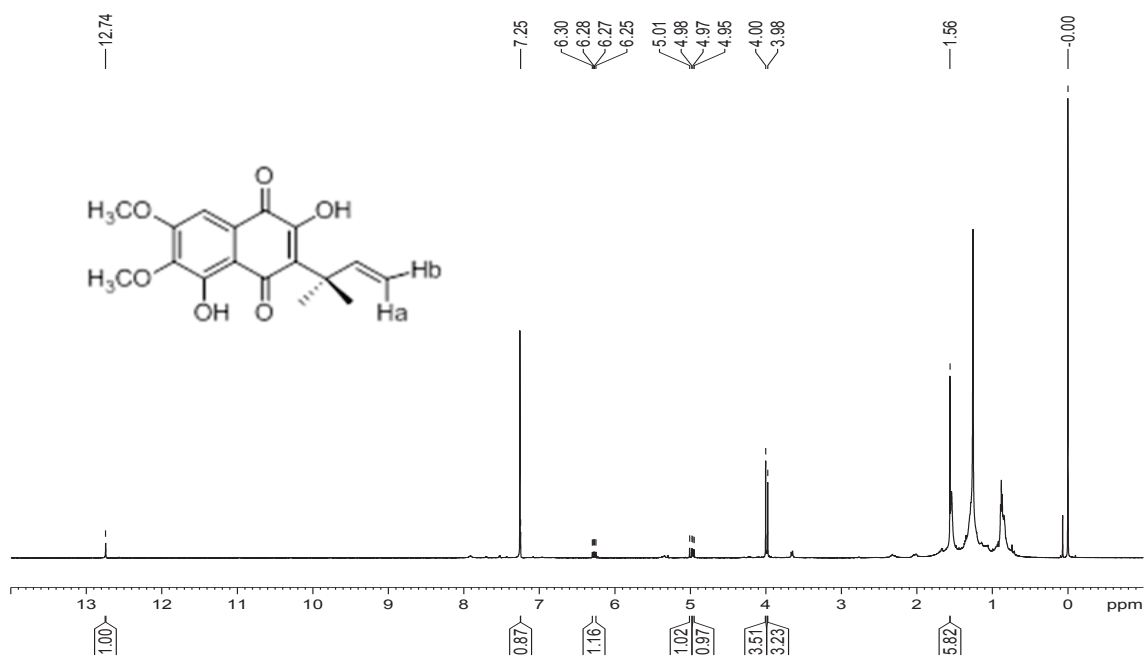
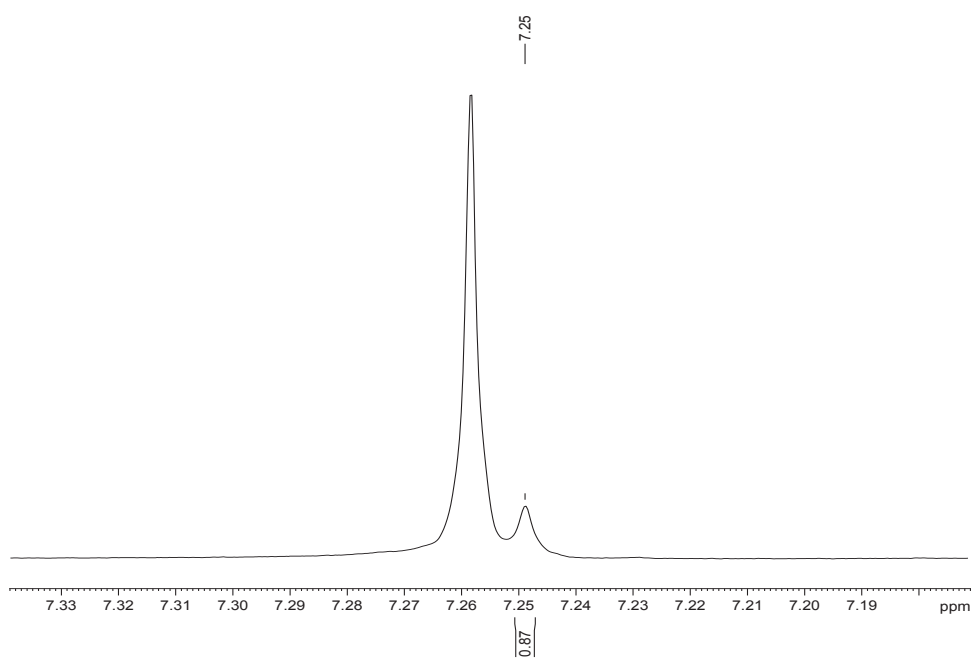
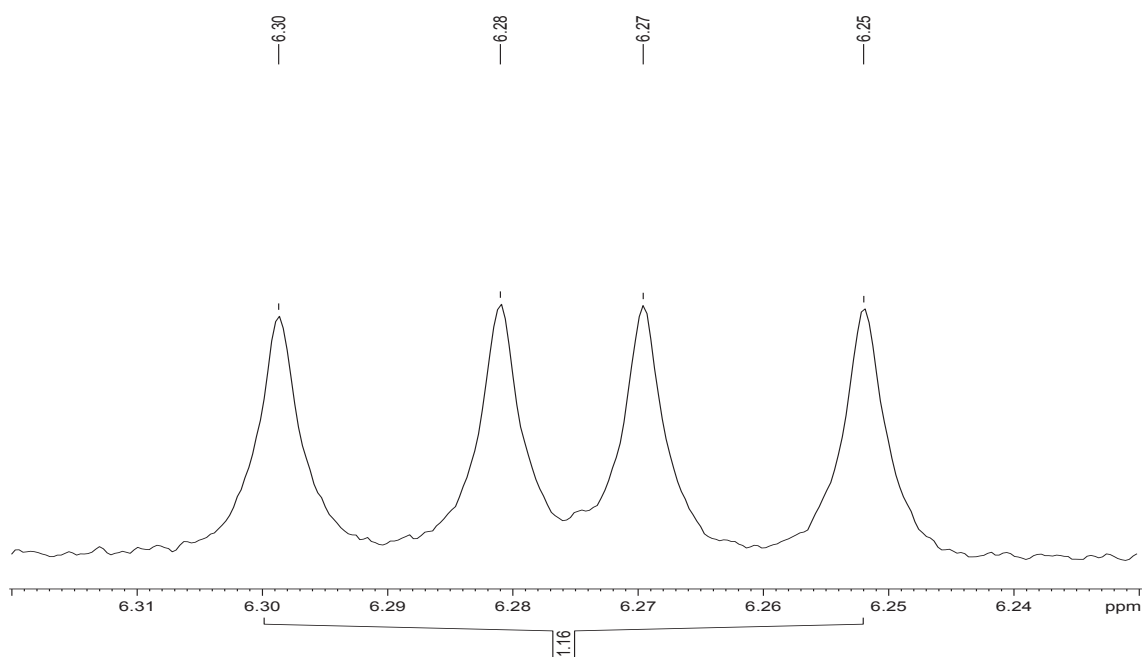
**FIGURA 103-** ESPECTRO DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO DE **SR11**.**FIGURA 104-** ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR11**.

FIGURA 105- ESPECTRO NO IV DE **SR11**.FIGURA 106- ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE **SR11** (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz).

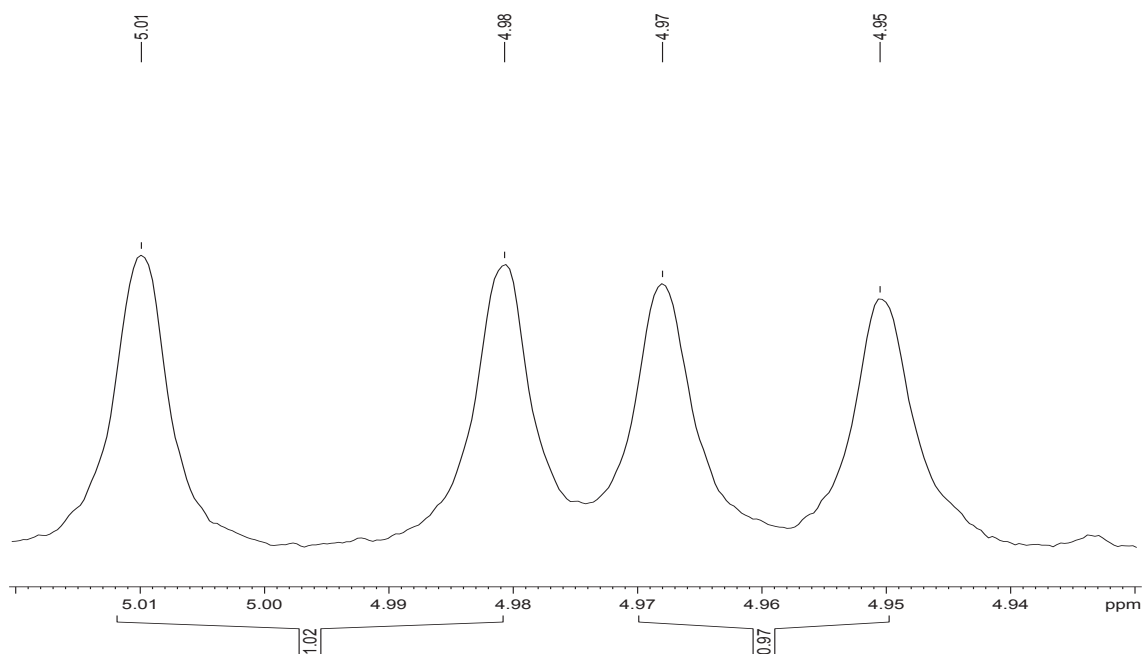
**FIGURA 107-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  7,33 E 7,20 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR11** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 108-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  6,31 E 6,24 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR11** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 109-** EXPANSÃO ENTRE  $\delta_H$  5,02 E 4,93 DO ESPECTRO DE RMN DE  $^1H$  DE **SR11** ( $CDCl_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 110-** ESPECTRO DE RMN  $^{13}C$  DA MISTURA DE **SR2** E **SR11** ( $CDCl_3$ , 100 MHz). FORAM ASSINALADOS OS PICOS DE **SR11**.

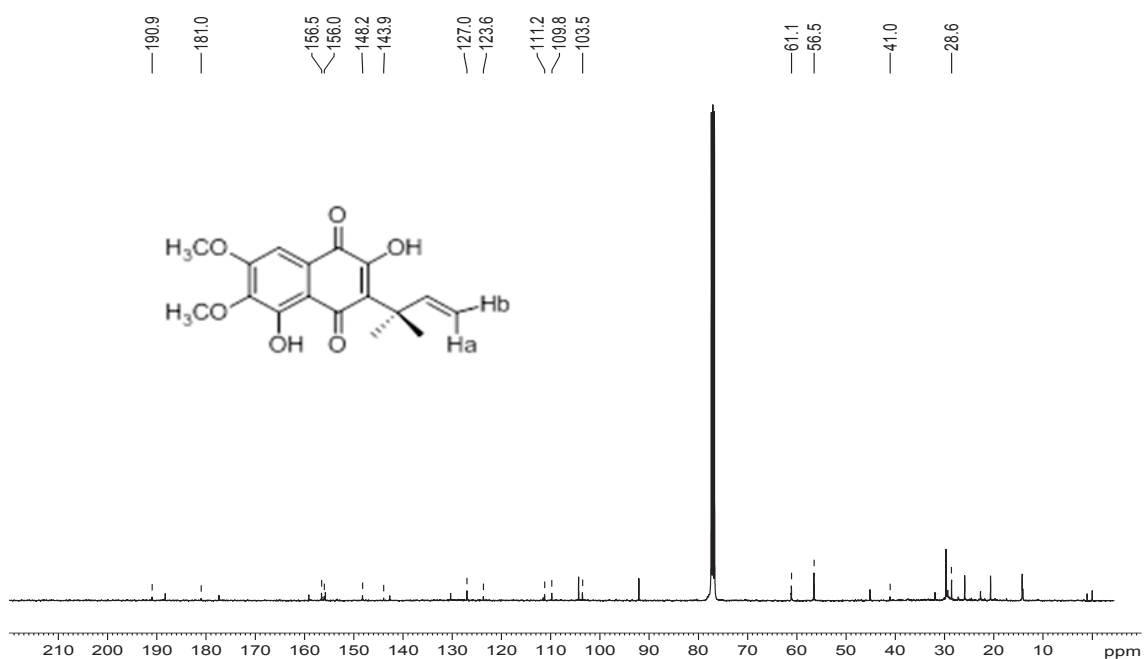


FIGURA 111- MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR11** ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz).

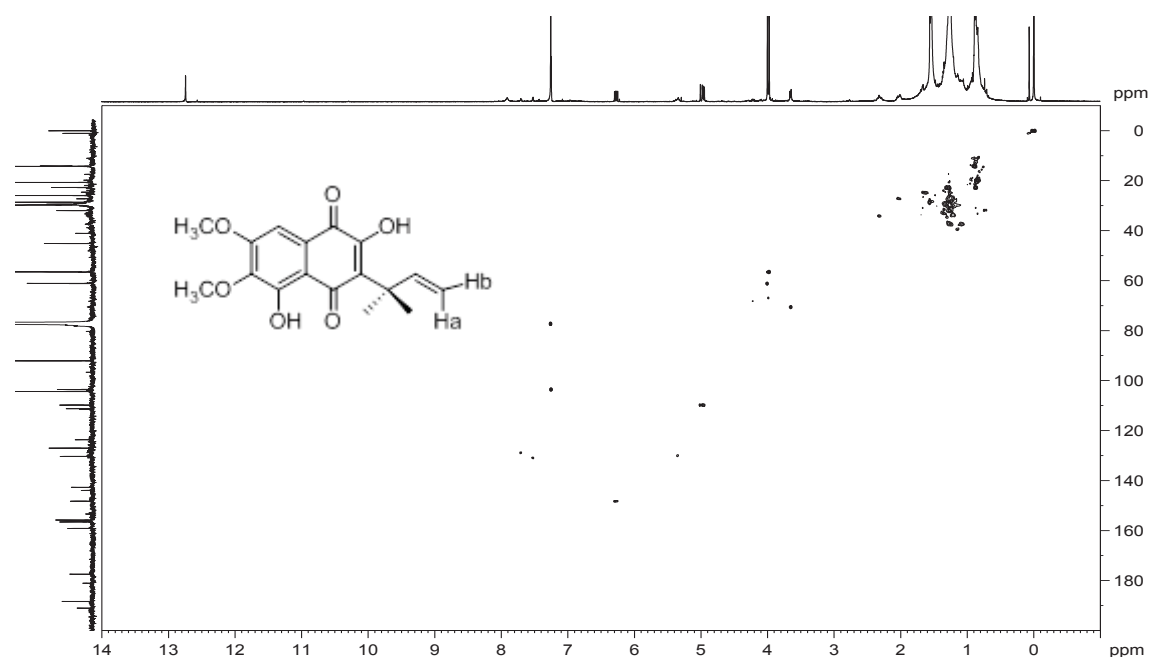
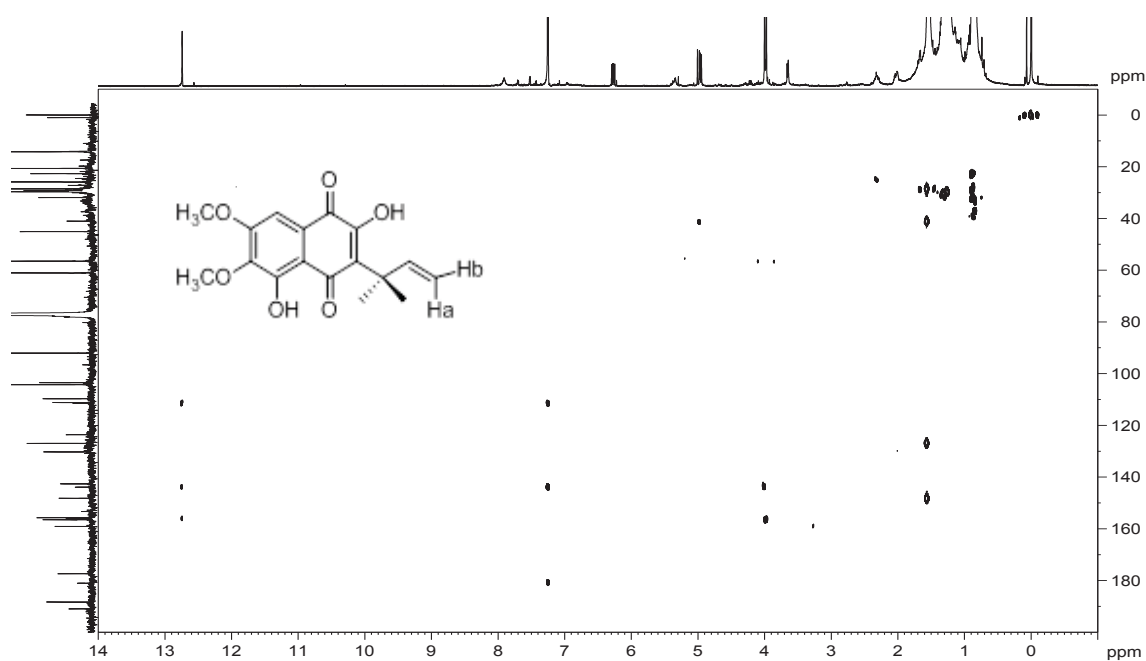


FIGURA 112- MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR11** ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz).

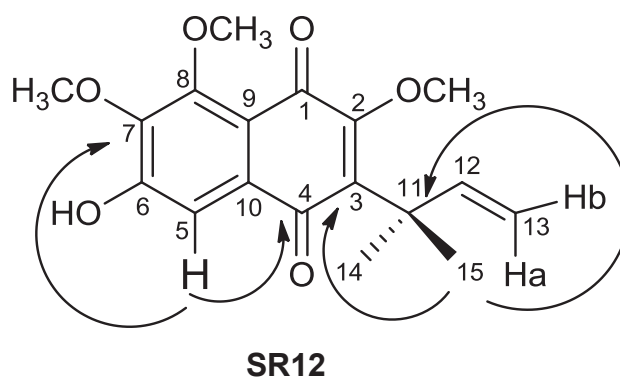




### 5.3.3- Determinação estrutural de **SR12**

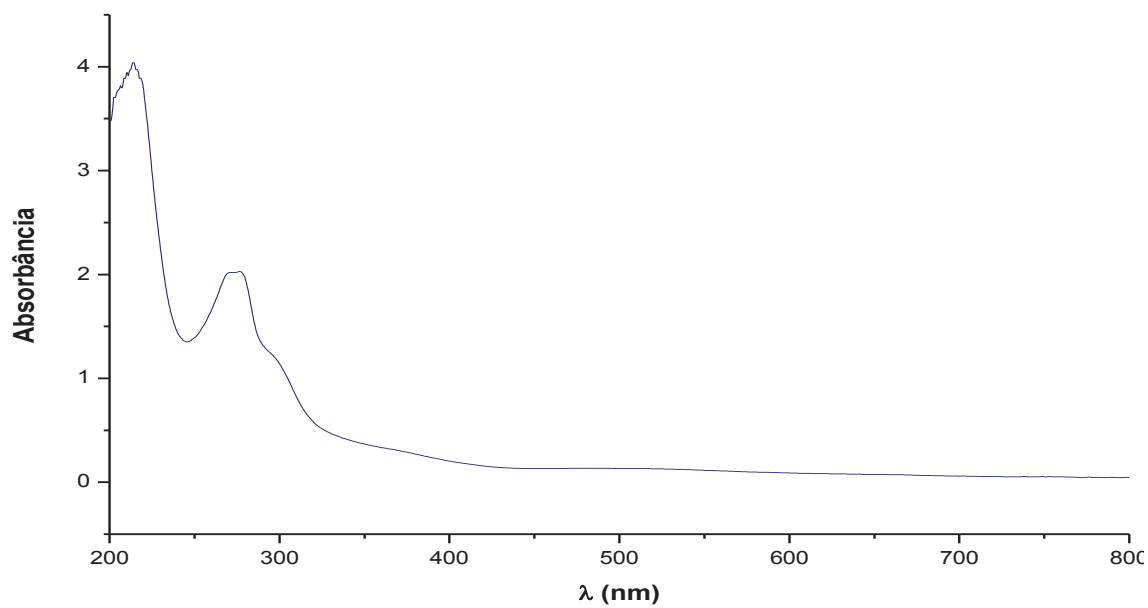
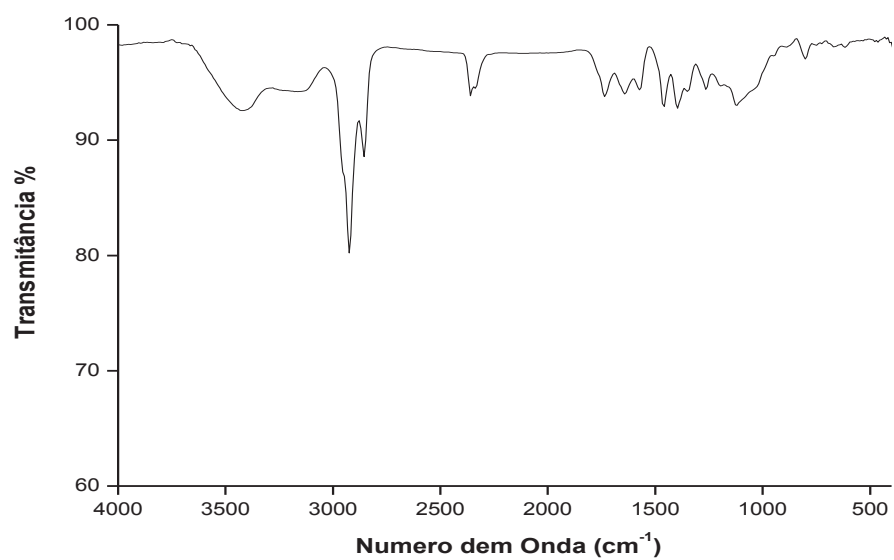
A substância **SR12** foi isolada como um sólido amarelo. O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 274 nm, característica de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 114; p. 139). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou uma banda de absorção em  $1641\text{ cm}^{-1}$ , característica de grupos carbonila da quinona, e uma banda larga em  $3415\text{ cm}^{-1}$  típica de hidroxila associada (Figura 115; p. 139).

A substância **SR12** apresentou um espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 18; p. 138, Figura 116; p. 140) muito semelhante aos das substâncias anteriores (**SR10** e **SR11**). As principais diferenças foram a ausência de um sinal de hidroxila em ligação intramolecular de hidrogênio, e a presença de sinais de três grupos metoxila. A posição destes substituintes foi definida por comparação com as demais e com dados da literatura. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **SR12** é possível observar um simpleto em  $\delta_{\text{H}}$  7,37, o qual deve estar em C-5, devido a correlação a longa distância (HMBC, Figura 118; p. 141) com um carbono em  $\delta_{\text{C}}$  185,1, que é típico de C-4 em derivados do dunniol (**1**, KHAMBAY et al, 1999). Outra correlação importante é observada entre H-5 e o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  144,2, que localiza um dos grupos metoxila em C-7. Os grupos metila ( $\delta_{\text{H}}$  1,49, H-14 e H-15) mostraram correlação com um carbono em  $\delta_{\text{C}}$  139,2, que só pode ser C-3. Este valor de deslocamento químico indica a presença de uma metoxila em C-2, como já discutido. Falta definir a posição de uma hidroxila e uma metoxila. Como não há nenhum sinal de hidroxila em ligação de hidrogênio pode-se supor que o grupo hidroxila está em C-6, sendo C-8 ocupado pela terceira metoxila. Portanto **SR12** foi identificada como 2,7,8-trimetoxi-3-(3,3-dimetilalil)-6-hidroxi-1,4-naftoquinona (2-O-metil-6-hidroxi-7,9-dimetoxidunniol) (Figura 113; p. 138), uma substância inédita na literatura. A pequena quantidade obtida não permitiu a obtenção de um espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , de modo que alguns deslocamentos químicos não puderam ser atribuídos.

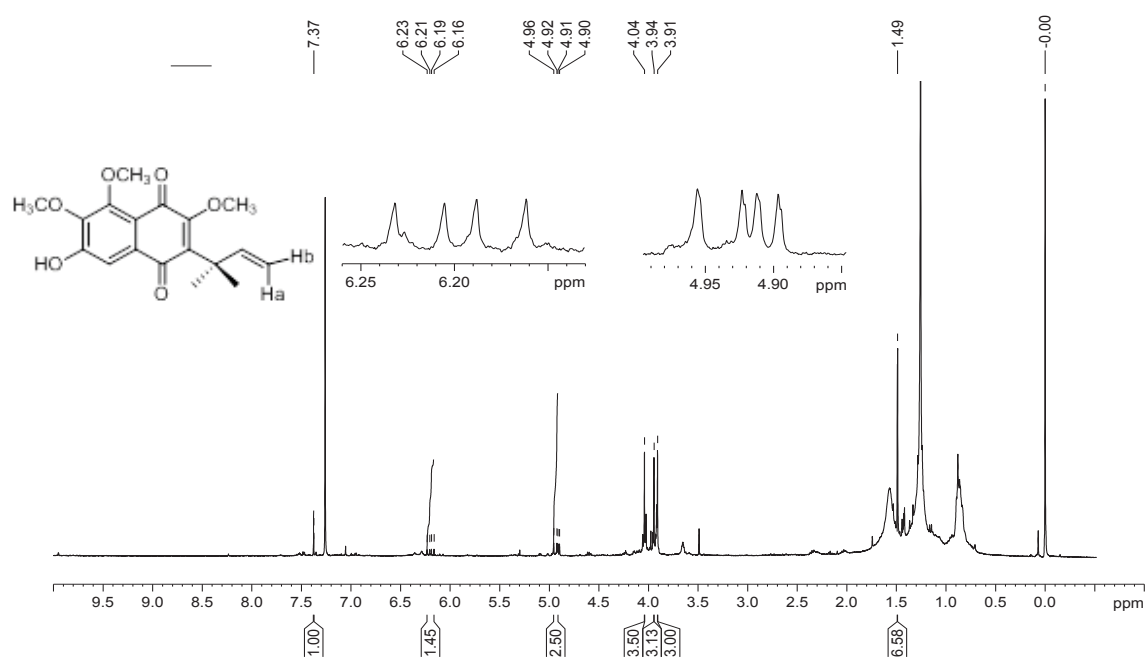
**FIGURA 113-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR12**.**TABELA 18-** DADOS DE RMN DE **SR12** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

Posição	SR12		
	$\delta_H$ (mult.; $J$ em Hz)	$\delta_C$	$^LJ_{H,C}$
1	-	N.O.	
2	-	159,2	
3	-	139,2	
4	-	185,1	
5	7,37 (s)	109,7	4, 7, 9
6	-	154,0	
7	-	144,2	
8	-	152,5	
9	-	118,3	
10	-	N.O.	
11	-	41,0	
12	6,20 (dd, 17,5; 10,5)	148,6	
13a	4,93 (dd, 17,5; 0,8)	108,5	11
13b	4,91 (dd, 10,5; 0,8)		
14	1,49 (s)	28,0	3, 11, 12, 15
15	1,49 (s)	28,0	3, 11, 12, 14
2-OCH <sub>3</sub>	3,91 (s)	61,1	2
7-OCH <sub>3</sub>	4,04 (s)	61,5	7
8-OCH <sub>3</sub>	3,94 (s)	61,6	8

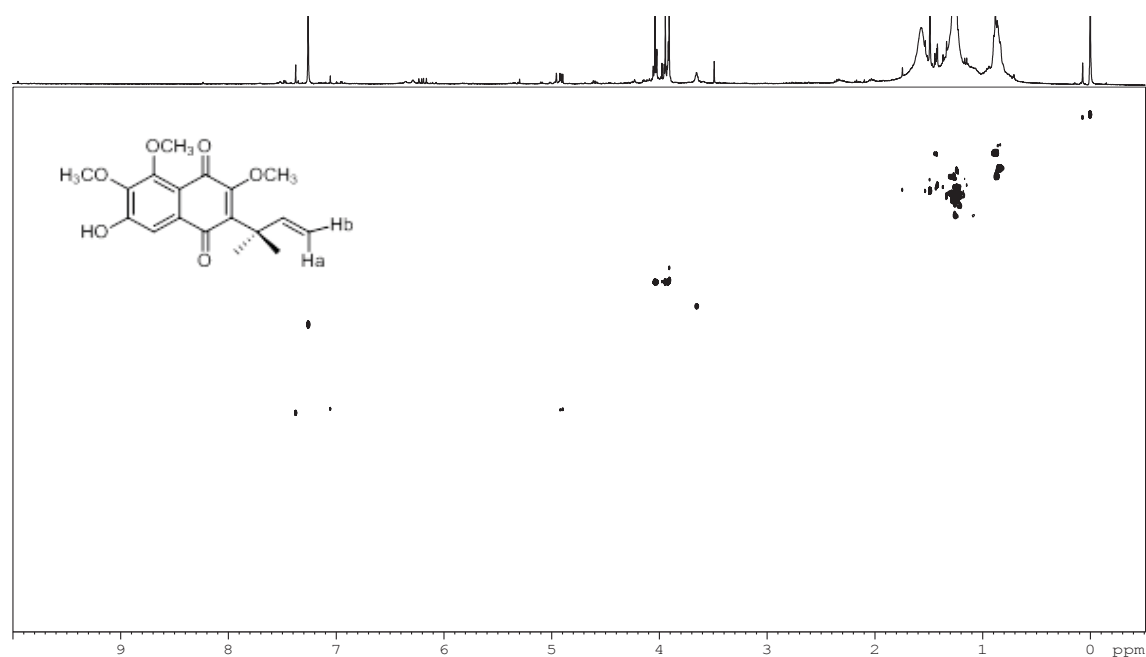
N.O. (Não observado)

**FIGURA 114- ESPECTRO NO UV-VIS DE SR12.****FIGURA 115- ESPECTRO NO IV DE SR12.**

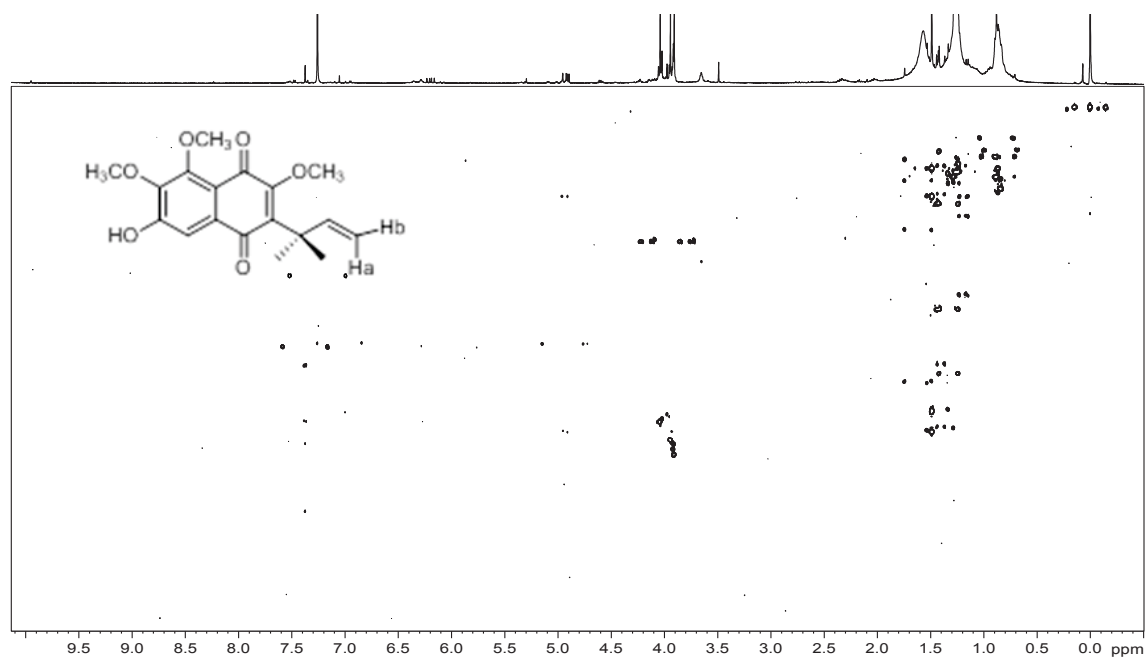
**FIGURA 116-** ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  DE **SR12** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 117-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR12** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



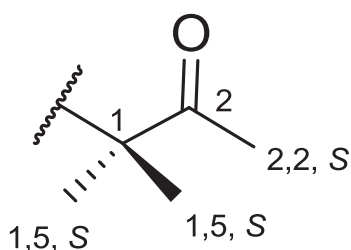
**FIGURA 118-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR12** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



#### 5.4. NAFTOQUINONAS COM O GRUPO 1,1-DIMETIL-2-OXOPROPILA

Esse grupo pode ser identificado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  pela presença de dois simpletos, sendo um deles correspondente aos dois grupos metila equivalentes, com deslocamento químico em torno de  $\delta_{\text{H}}$  1,5 e, outro em torno de  $\delta_{\text{H}}$  2,2, referente ao grupo acetila (Figura 119).

**FIGURA 119-** ESTRUTURA DO GRUPO 1,1-DIMETIL-2-OXOPROPILA, COM OS DESLOCAMENTOS CARACTERÍSTICOS NO ESPECTRO DE RMN DE  $^1\text{H}$  (INOUE et al., 1982).



A naftoquinona mais simples desse tipo é a streptocarpona (Figura 120), isolada anteriormente de *Streptocarpus dunnii* (INOUE et al., 1982; 1983). No presente trabalho foi isolada uma substância que era inédita (**SR13**), derivada da streptocarpona.

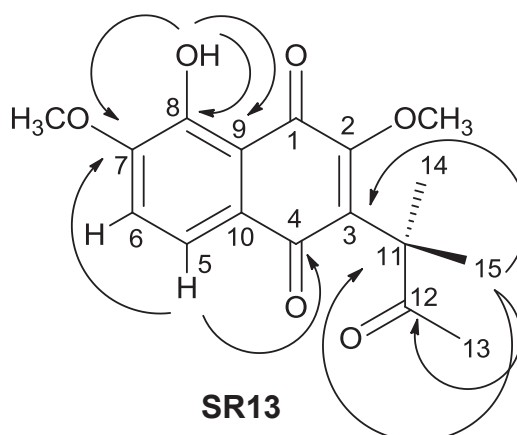
**FIGURA 120-** ESTRUTURA DA STREPTOCARPONA (INOUE et al., 1982).



#### 5.4.1- Determinação estrutural de **SR13**

A substância **SR13** foi isolada como um sólido vermelho. O seu espectro de massas de alta resolução mostrou o pico em 319,11761  $[M + H]^+$ , indicando a fórmula molecular  $C_{17}H_{18}O_6$  para esta substância (Figura 122; p. 145). O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) mostrou uma banda intensa em 268 nm, característica de grupos cromóforos insaturados ou aromáticos (Figura 123; p. 145). O espectro de absorção na região do infravermelho (IV) mostrou duas bandas de absorção em 1730 e 1630  $cm^{-1}$ , características dos grupos carbonila de cetonas e quinonas, respectivamente, além das bandas largas em 3541 e 3423  $cm^{-1}$ , típicas de hidroxila em ligação de hidrogênio intramolecular e intermolecular (Figura 124; p. 146).

No espectro de RMN de  $^1H$  de **SR13** (Tabela 19; p. 145, figura 125; p. 146) foram observados sinais de dois hidrogênios de anel aromático com multiplicidades e constantes de acoplamento de hidrogênios em *orto* ( $\delta_H$  7,07, *d*,  $J = 8,4$  Hz e  $\delta_H$  7,57, *d*,  $J = 8,4$  Hz). Também foram observados sinais para uma hidroxila em ligação intramolecular de hidrogênio ( $\delta_H$  12,06), e dois grupos metoxila ( $\delta_H$  3,98 e 4,05). Três grupos metila foram evidenciados através de dois simpletos em  $\delta_H$  1,50 (6H) e em  $\delta_H$  2,17 (3H), sugerindo a presença do grupo 1,1-dimetil-2-oxopropila. O espectro de RMN de  $^{13}C$  (Figura 126; p. 147) mostrou 16 sinais, dos quais um em  $\delta_C$  209,3, pode ser atribuído a uma carbonila de cetona, e dois aos grupos carbonilas da unidade quinona ( $\delta_C$  183,9 e 187,0). Esses dados indicaram um derivado da streptocarpona. A posição dos substituintes foi determinada através de análises dos mapas de correlação a uma ligação (Figura 127; p. 147) e a longa distância (Figura 128; p. 148). A hidroxila pode estar em C-5 ou C-8. No HMBC, o hidrogênio em  $\delta_H$  7,57 apresentou correlação com um carbono carbonílico em  $\delta_C$  183,9, que é típico de C-4. Portanto este hidrogênio está em C-5, a hidroxila em C-8, e um dos grupos metoxila em C-7. O outro grupo metoxila só pode estar em C-2. Nesse mesmo experimento, os grupos metila em  $\delta_H$  1,50 mostraram correlações entre si e com os carbonos em  $\delta_C$  51,0 (C-11), 141,5 (C-3) e 209,3 (C-12), estabelecendo a carbonila de cetona em C-12. Desse modo, **SR13** foi identificada como 8-hidroxi-7-metoxi-2-O-metilstreptocarpona (Figura 121; p. 144), uma substância inédita na literatura.

**FIGURA 121-** ESTRUTURA E PRINCIPAIS CORRELAÇÕES NO HMBC DE **SR13**.**TABELA 19 –** DADOS DE RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) DE **SR13**.

Posição	SR13		
	$\delta_H$ (mult.; $J$ em Hz)	$\delta_C$	$^L D J_{H,C}$
1	-	187,0	
2	-	158,2	
3	-	141,5	
4	-	183,9	
5	7,57 ( <i>d</i> , 8,5)	120,8	4, 7, 9
6	7,07 ( <i>d</i> , 8,5)	115,7	8, 10
7	-	153,7	
8	-	151,8	
9	-	114,3	
10	-	124,0	
11	-	51,0	
12	-	209,3	
13	2,17 ( <i>s</i> )	25,5	11, 12
14	1,5 ( <i>s</i> )	24,9	3, 11, 12, 15
15	1,5 ( <i>s</i> )	24,9	3, 11, 12, 14
OH	12,06 ( <i>s</i> )	-	7, 8, 9
2-OCH <sub>3</sub>	4,05 ( <i>s</i> )	61,5	2
7-OCH <sub>3</sub>	3,98 ( <i>s</i> )	56,4	7



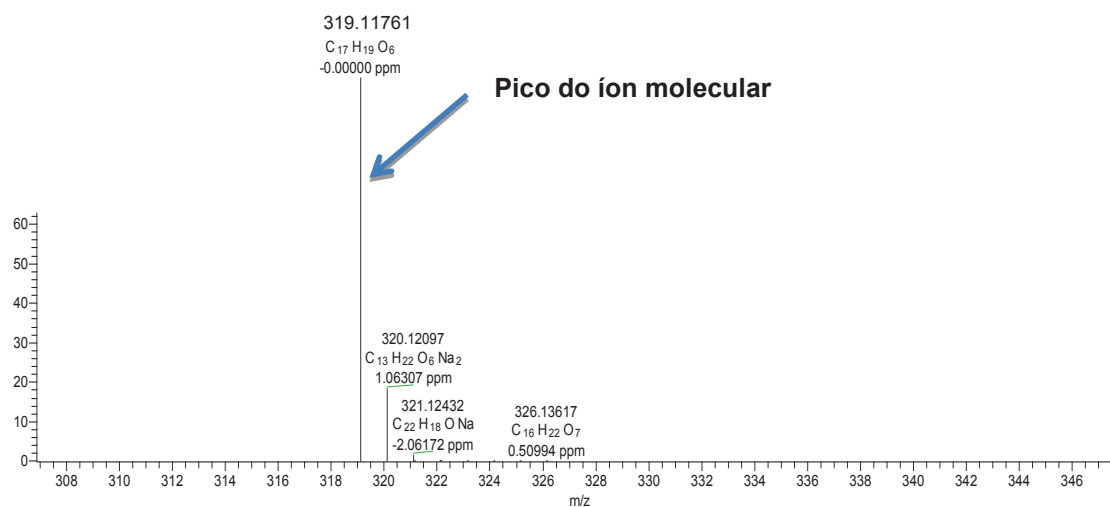
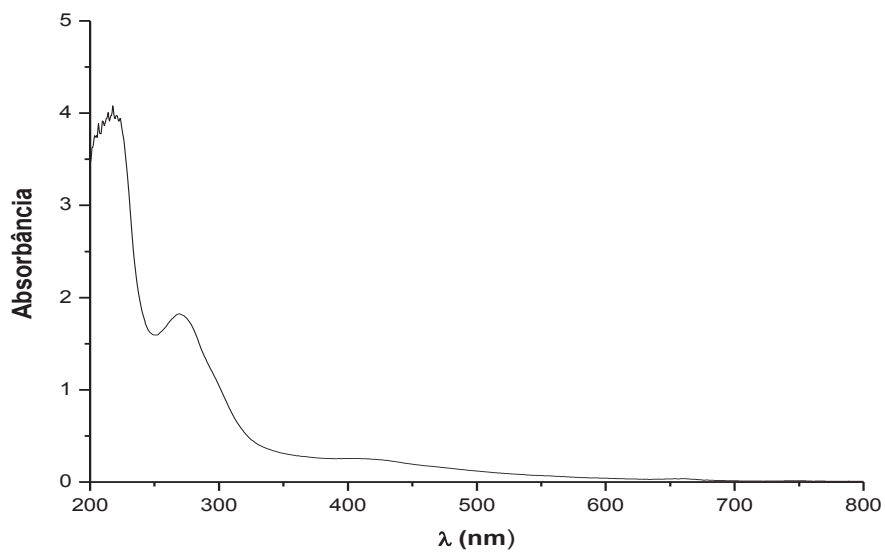
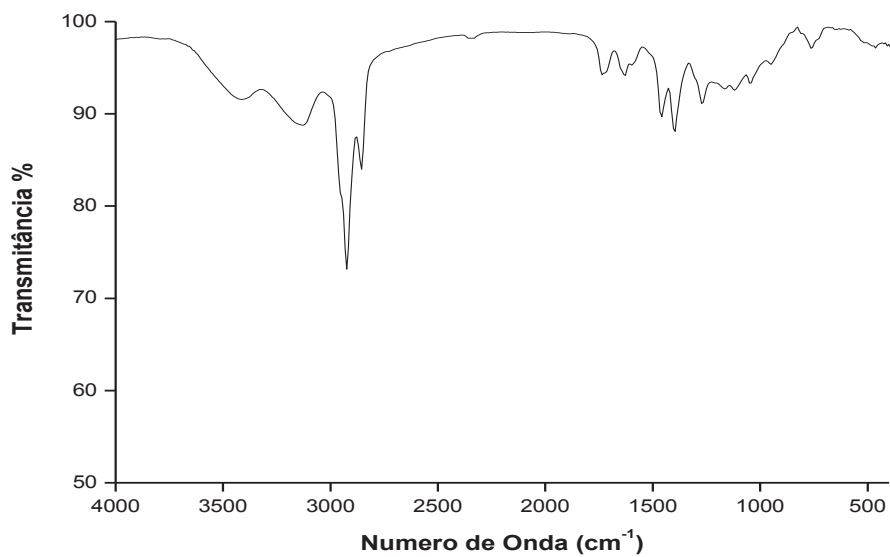
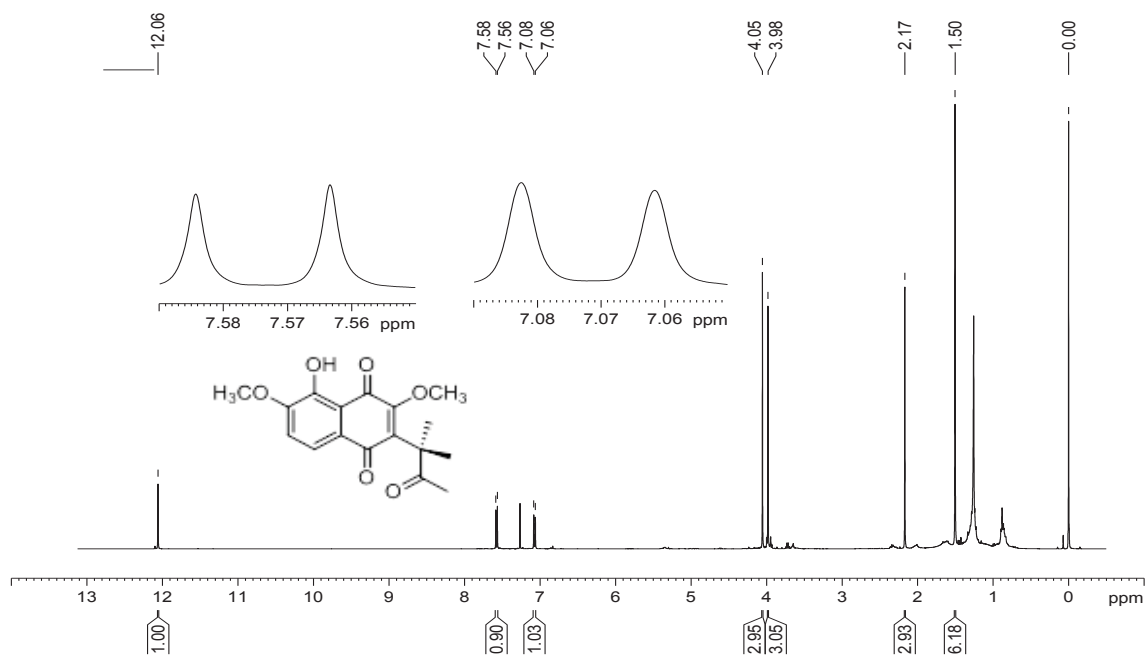
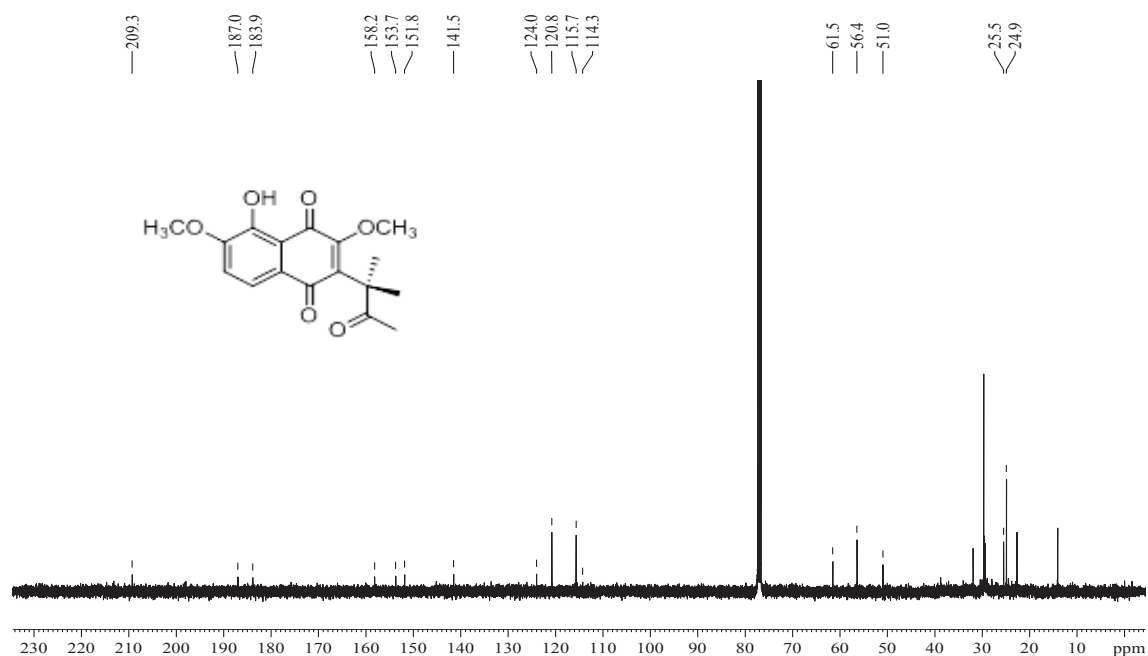
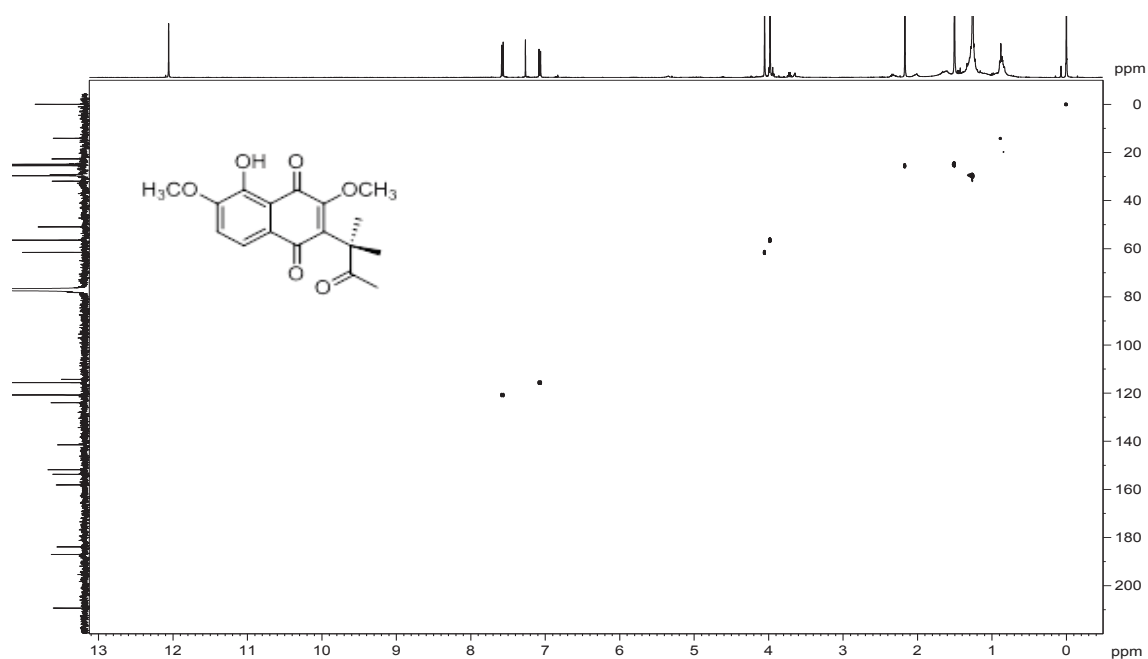
**FIGURA 122-** ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DE **SR13**.**FIGURA 123-** ESPECTRO NO UV-VIS DE **SR13**.

FIGURA 124- ESPECTRO NO IV DE **SR13**.FIGURA 125- ESPECTRO DE RMN DE <sup>1</sup>H DE **SR13** (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

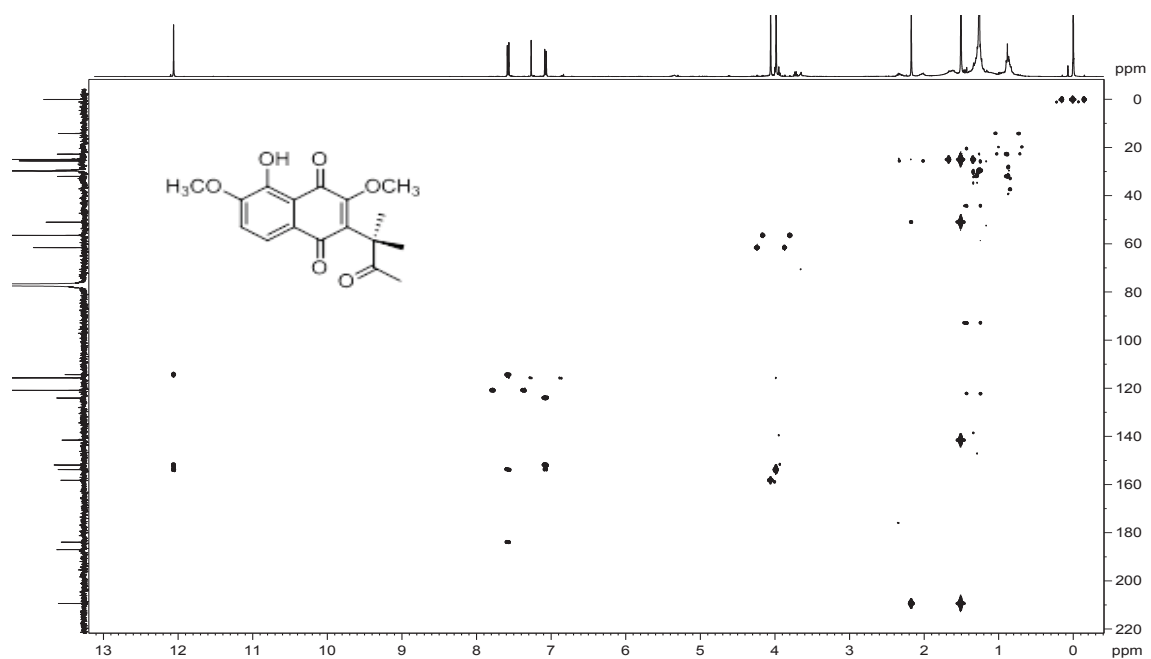
**FIGURA 126-** ESPECTRO DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DE **SR13** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



**FIGURA 127-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A UMA LIGAÇÃO DE **SR13** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**FIGURA 128-** MAPA DE CORRELAÇÃO  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  A LONGA DISTÂNCIA DE **SR13** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



## 5.5- ENSAIOS BIOLÓGICOS

### 5.5.1- Atividade Citotóxica

A atividade citotóxica das amostras foi expressa em valores de  $IC_{50}$  (concentração que inibe 50% da população de células), sendo que para misturas (extratos) consideram-se ativas aquelas com  $IC_{50} \leq 100 \mu\text{g mL}^{-1}$  (SKEHAN et al., 1990). Considerando os dados da tabela 20, observa-se que dois extratos, **SRH** (extrato em hexano) e **SRA** (extrato em AcOEt), são bastante citotóxicos para a linhagem de células não tumorais, 3T3, ( $IC_{50}$  de 1,7 e 0,85  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente), enquanto os outros dois mostram uma menor citotoxicidade que a doxorrubicina, controle positivo (Figura 129; p. 151). Os extratos em hexano e diclorometano apresentam uma forte atividade contra as células de próstata ( $IC_{50} = 0,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), enquanto que as células de melanoma foram inibidas apenas pelo extrato em hexano ( $IC_{50} = 37,24 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Portanto os extratos mais ativos foram os extratos em hexano, e em diclorometano. O segundo combina seletividade e baixa toxidez, sendo muito promissor para o isolamento de substâncias com atividade contra a linhagem de células PC-3. Entretanto os dois extratos foram similares por CCDA, apresentando vários constituintes em comum. Essa diferença de atividade pode ser consequência da diferença na concentração dos constituintes em cada extrato.

**TABELA 20-** DADOS DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS DOS TUBÉRCULOS DE *S. reitzii*.

Amostras	$IC_{50} (\mu\text{g mL}^{-1})$		
	3T3	PC-3	SKMEL 103
<b>SRH</b>	1,7	< 0,25	37,24
<b>SRd</b>	18,36	< 0,25	> 250
<b>SRA</b>	0,85	0,58	> 250
<b>SRE</b>	29,6	30,48	> 250
<b>Doxorrubicina*</b>	15,18	0,022	30,19

\*controle positivo; 3T3 – células não tumorais de fibroblastos; PC-3 – células tumorais de próstata; SKMEL 103 – células tumorais de melanoma.

Além dos extratos mencionados acima foram avaliados também as substâncias **SR1**, **SR2**, **SR4** e **SR8** quanto à sua atividade citotóxica contra as mesmas linhagens usadas para os extratos, além de uma linhagem adicional de célula tumoral (HeLa—colo do útero).

A amostra **SR4** exibiu forte citotoxicidade contra as linhagens celulares de HeLa e PC3 ( $IC_{50} < 10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), e uma menor atividade para SKMEL 103 ( $IC_{50} = 26,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). **SR4** foi mais ativo contra células HeLa ( $IC_{50} = 4,47 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) do que o medicamento padrão doxorrubicina ( $IC_{50} = 14,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ); também foi menos tóxico para a linha celular não tumoral 3T3 ( $IC_{50} = 157 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em comparação à doxorrubicina ( $IC_{50} = 27,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). As amostras **SR1**, **SR2** e **SR8** foram consideradas inativas contra todas as células testadas, uma vez que mostraram  $IC_{50} > 50 \mu\text{mol L}^{-1}$  (Tabela 21; p. 151).

O racemato **SR1** (8-hidroxi-dunniona) apresentou em um estudo prévio, uma forte atividade citotóxica contra quatro linhagens de células tumorais (HBL-100, mama; HeLa, SW1573, pulmão; WiDr, cólon), com valores de  $GI_{50}$  0,54-5,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Neste trabalho, a concentração que inibiu em 50% o crescimento das células HeLa foi de apenas 1,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (DUCHOWICZ et al., 2014). Essa enorme diferença na citotoxicidade entre o nosso estudo e o anterior pode ser consequência da metodologia empregada para estimar a viabilidade celular. O método por nós empregado (MTT) estima a viabilidade celular através de medidas de atividade de desidrogenases mitocondriais. Por outro lado, DUCHOWICZ e colaboradores (2014) usaram o método da sulforrodamina B, o qual mede o teor proteico. Ambos deveriam dar resultados semelhantes, pois uma menor atividade enzimática também levaria a uma menor produção de proteínas. Entretanto é possível que, em alguns casos, a substância testada não afete a atividade enzimática, mas altere outros parâmetros que influem na produção proteica, reduzindo o seu conteúdo, e sinalizando uma atividade citotóxica.

A citotoxicidade de algumas naftoquinonas derivadas da  $\alpha$ -dunniona também foi avaliada anteriormente, mas não foi observado uma relação clara entre estrutura e atividade (SHERIDAN et al., 2011).

O pequeno número de substâncias analisadas não permite generalizações sobre a relação estrutura-atividade; no entanto, a estrutura do composto ativo (**SR4**)

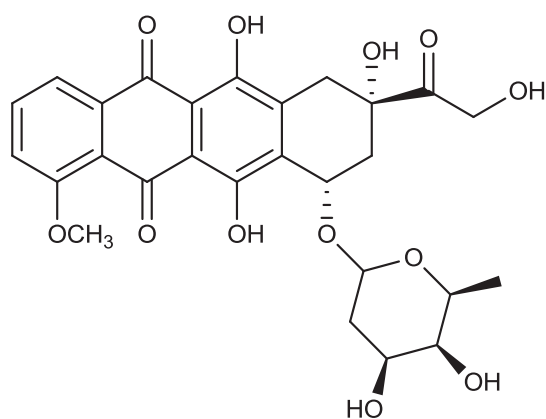
sugere que a ausência de substituintes em C-5 e C-8 pode ser importante para a atividade.

**TABELA 21-** DADOS DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DAS SUBSTÂNCIAS **SR1**, **SR2**, **SR4** E **SR8**.

Linhagem Celular	IC <sub>50</sub> (μmol L <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>				
	SR1	SR2	SR4	SR8	Doxo <sup>b</sup>
<b>PC-3</b>	> 969	> 786	7,77	> 972	0,40
<b>SKMEL</b>	> 969	> 786	26,2	> 972	8,29
<b>HeLa</b>	> 969	398	4,47	972	14,2
<b>3T3</b>	> 969	> 786	157	241	27,9

<sup>a</sup>Média das três análises. Os coeficientes de variação obtidos nestas análises foram ≤ 5%. <sup>b</sup>Controle positivo –Doxorrubicina. HeLa (colo do útero).

**FIGURA 129-** ESTRUTURA DA DOXORRUBICINA



### 5.5.2- Atividade Antioxidante

Os extratos dos tubérculos de *S. reitzii* mostraram boa atividade antioxidante frente ao método ORAC, com valores variando de 1.445,8 – 5.814,3 (Tabela 22). Uma vez que são consideradas ativas todas as amostras que tiverem valores maiores que 800  $\mu\text{mol TE/g}$  de extrato (STRAPASSON et al., 2017), pode-se afirmar que todos os extratos foram ativos, sendo o extrato etanólico o que mostrou a maior capacidade antioxidante. Este resultado pode ser explicado considerando que a atividade antioxidante é causada por compostos de natureza fenólica, como os padrões utilizados (Figura 130, p. 153), que geralmente são mais abundantes no extrato etanólico. Não foi possível identificar nenhuma substância do extrato etanólico, mas uma análise do seu espectro de RMN de  $^1\text{H}$  mostrou a presença de glicosídeos fenólicos, como as substâncias **52-57** (Figura 11, p. 41), que são comuns em Gesneriaceae e apresentam grupos estruturais como o catecol, onde os grupos hidroxila vicinais são importantes substituintes em moléculas com considerável atividade antioxidante, como por exemplo, a quercetina, isoquercetina, ácido caféico e o ácido clorogênico, empregados como controles positivos no ensaio antioxidante (Tabela 22).

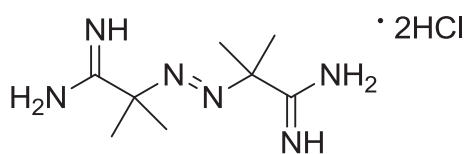
**TABELA 22-** DADOS DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE *S. reitzii* PELO ENSAIO ORAC.

Amostras	$\mu\text{mol de TE/g de extrato ou fração (coeficiente de variação)}$
<b>SRH</b>	1.458,4 (1,22)
<b>SRd</b>	1.445,8 (1,17)
<b>SRA</b>	3.103,7 (4,29)
<b>SRE</b>	5.814,3 (1,30)
Quercetina <sup>b</sup>	5,60 (1,50)*
Isoquercetina <sup>b</sup>	5,15 (1,70)*
Ácido cafeico <sup>b</sup>	2,85 (0,95)*
Ácido clorogênico <sup>b</sup>	2,65 (1,00)*

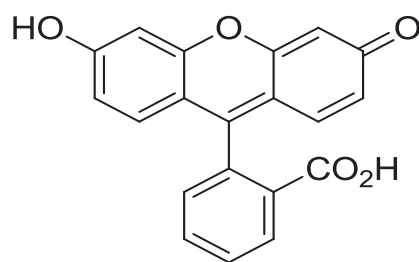
Os resultados estão expressos como micromols de Trolox equivalente por grama de extrato ou fração em base seca; \* expresso em termos de Trolox equivalente relativo por se tratar de substância pura; <sup>b</sup> controles experimentais.



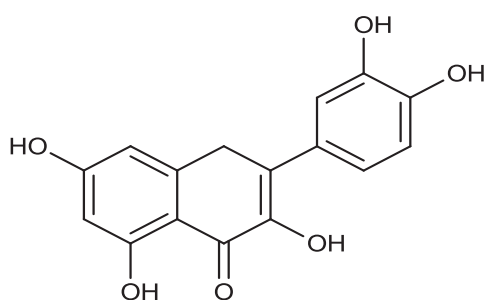
**FIGURA 130-** ESTRUTURAS DE AAPH, FLUORESCEÍNA, QUERCETINA, ISOQUERCETINA, ÁCIDO CAFEÍCO, ÁCIDO CLOROGÊNICO E TROLOX.



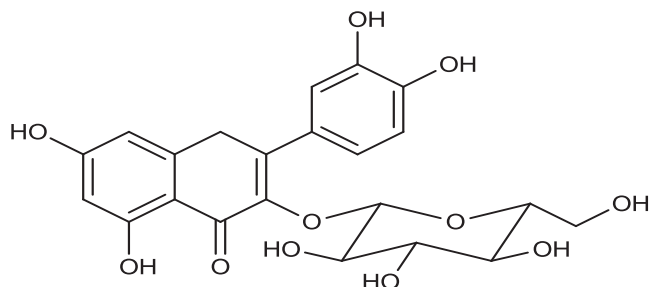
AAPH



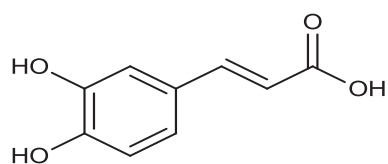
Fluoresceína



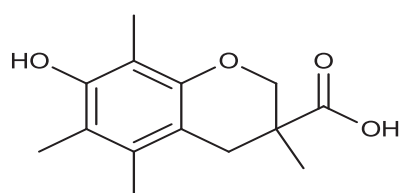
Quercetina



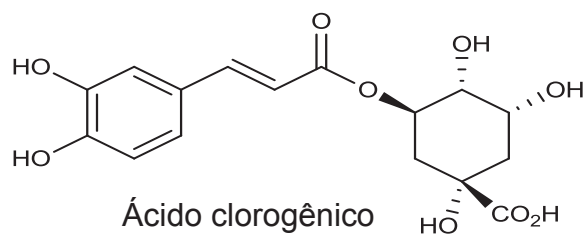
Isoquercetina



Ácido cafeíco



Trolox



Ácido clorogênico

### 5.5.3- Atividade Antimicrobiana

Os resultados da atividade antimicrobiana estão mostrados na tabela 23. Observa-se que nenhum extrato inibiu o crescimento das bactérias gram-negativas, enquanto que os fungos foram inibidos apenas com a maior dose dos extratos em hexano e diclorometano. As bactérias gram-positivas foram mais susceptíveis, mas mesmo assim o valor a concentração inibitória mínima foi elevada ( $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). De acordo com RIOS; RECIO (2005), extratos promissores para o isolamento de substâncias com atividade antimicrobiana devem apresentar uma concentração inibitória mínima de até  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Adotando esse critério, nenhum dos extratos de *S. reitzii* tem atividade antimicrobiana relevante.

**TABELA 23-** DADOS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS TUBÉRCULOS DE *S. reitzii*.

Microrganismo	CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )				Controle positivo
	SRH	SRd	SRA	SRE	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 14458	250	250	250	250	25,0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	250	250	250	250	50,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	-	-	-	-	50,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853*	-	-	-	-	>500
<i>Cândida albicans</i> ATCC 10231	1000	1000	-	-	12,5
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	1000	1000	-	-	12,5
<i>C. dubliniensis</i> ATCC 778157	1000	1000	-	-	12,5
<i>C. glabrata</i> ATCC 30070	1000	1000	-	-	12,5

\* cepa de campo; – sem inibição do desenvolvimento.

## 6. CONCLUSÃO

Dos extratos em hexano e diclorometano dos tubérculos de *Sinningia reitzii* foram isoladas e identificadas treze substâncias (**SR1-SR13**), das quais nove são inéditas (**SR2, SR4, SR5, SR6, SR8, SR9, SR11, SR12 e SR13**). Todas pertencem à classe das naftoquinonas preniladas, sendo algumas com o grupo 2,3,3-dimetil-2,3-diidrofurano (dunnionas ou  $\alpha$ -dunnionas) e outras com uma cadeia lateral acíclica (grupo 1,1-dimetilalila ou 1,1-dimetil-2-oxopropila).

Diferentemente de outras espécies de *Sinningia* já estudadas, que contém substâncias de várias classes, *S. reitzii* parece ter se especializado na biossíntese de naftoquinonas.

Os ensaios biológicos mostraram que os extratos menos polares (em hexano e em diclorometano) têm substâncias com ação citotóxica, principalmente contra linhagens de células tumorais de próstata. Essa atividade dos extratos é, ao menos em parte, devido à naftoquinona **SR4** (6,7-dimetoxidunniona), a qual mostrou uma atividade forte e seletiva contra as linhagens de células tumorais HeLa e PC3. Esta substância pode ser considerada promissora para o tratamento de tumores de próstata e colo do útero, mas novos ensaios com diferentes metodologias deverão ser realizados para confirmar essa possível aplicação.

O extrato em etanol é o mais rico em substâncias antioxidantes, provavelmente devido a um elevado teor de glicosídeos fenólicos.

Nenhum dos extratos mostrou ação antimicrobiana significativa, o que está de acordo com resultados prévios obtidos para *S. hatschbachii* e *S. warmingii*.

De modo geral esta pesquisa contribuiu para o estudo de novos metabólitos secundários da família Gesneriaceae, bem como a avaliou o potencial de algumas atividades biológicas nos extratos dos tubérculos da *S. reitzii* e também algumas substâncias isoladas. Alguns estudos ainda podem ser desenvolvidos com essa espécie, já que não houve tempo suficiente para avaliar todo o seu tecido. Além disso, uma breve análise do RMN de  $H^1$  do extrato etanólico dos tubérculos de *S. reitzii*, mostrou a presença de glicosídeos fenólicos, os quais podem estar associados à atividade antioxidante desse extrato, sendo assim uma ótima opção para futuros estudos em relação ao isolamento dessas substâncias puras.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABDULLAHI, H.; NYANDAT, E.; GALEFFI, C.; MESSANA, I.; NICOLETTI, M.; MARINI-BETTOLO, G. B. Cyclohexanols of *Halleria lucida*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 12, p. 2821-2823, 1986.
- AFFONSO, P.; TAKEUCHI, C.; NAKANO, R. K. Levantamento de Gesneriaceae Rich. & Juss. no núcleo Curucutu, Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo, SP, Brasil. **Hoehnea**, v. 41, n. 4, p. 563-572, 2014.
- ALY, A. H.; DEBBAB, A.; KJER, J.; PROKSCH, P. Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. **Fungal Diversity**, v. 4, p. 1-16, 2010.
- AMORIM, M. S.; SERAIN, A. F.; SALVADOR, M. J.; STEFANELLO, M. E. A. Chemical constituents of *Sinningia hatschbachii* (Gesneriaceae). **Natural Product Communications**, v. 12, n. 11, p. 1763-1764, 2017.
- ARAÚJO, A.O.; CHAUTEMS, A. *Sinningia* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7879>>. Acesso em: 10/03/19.
- ARAÚJO, A.O.; CHAUTEMS, A.; FERREIRA, G.E. *Gesneriaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB119>>. Acesso em: 10/03/19.
- ARAÚJO, A. O.; SOUZA, V. C.; CHAUTEMS, A. Gesneriaceae da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, n. 1, p. 109-135, 2005.
- BABULA, P.; ADAM, V.; HAVEL, L; KIZEK, R. Noteworthy secondary metabolites naphthoquinones – their occurrence, pharmacological properties and analysis. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 5, n.1, p. 47-68, 2009.
- BARBOSA, F. L.; MORI, L. S.; RIVA, D.; STEFANELLO, M. E. A.; ZAMPRONIO, A. R. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, fractions and 8-Methoxylapachenol from *Sinningia*

- allagophylla* tubers. **Basic Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 113, n. 1, p. 1–7, 2013.
- BECKE, D. A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories. **Journal Chemistry Physics**, v. 98, p. 1372-1377, 1993.
  - BRASIL. Portaria MMA N<sup>o</sup>. 443, de 17 de dezembro de 2014. Estabelece a Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 nov 2014, seção 1, p. 110-121.
  - BOGGAN, J.; SHALIT, P. What is a Gesneriad? **Gesneriads: The journal for Gesneriad Growers**, v. 56, n. 1, p. 14-21, 2006.
  - BORK, P. M.; SCHMITZ, M. L.; KUHNT, M.; ESCHER, C.; HEINRICH, M. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF-κB. **Febs Letters**, v. 402, n. 1, p. 85-90, 1997.
  - BLUNT, J. W.; COPP, B. R.; MUNRO, M. H. G.; NORTHCOTE, P. T.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, v. 27, n. 2, p. 165-237, 2010.
  - BRUSOTTI, G.; CESARI, I.; DENTAMARO, A.; CACCIALANZA, G.; MASSOLINI, G. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 218-228, 2014.
  - CAI, X. H.; LUO, X. D.; ZHOU, J.; HAO, X-J. Quinones from *Chirita eburnea*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 5, p. 797-799, 2005.
  - CARBONÓ-DELAHOZ, E.; DIB-DIAZGRANADOS, J. C. Plantas medicinales usadas por los cogui en el rio Palomino, Sierra Nevada de Santa Marta (Colômbia). **Caldasia**, v. 35, n. 2, p. 333-350, 2013.
  - CASANA, C. F. D.; CRUZ, P. L. B.; TEIXEIRA, B. J.; MEDINA, M. D. P.; EFFIO, P. J. C. Análisis fitoquímico preliminar de la papa madre (*Sinningia warmingii*). **Pueblo Continente**, v. 23, n. 2, p. 345-350, 2012.
  - CEOLIN, T. **Conhecimento sobre plantas medicinais entre agricultores de**

**base ecológica da região Sul do Rio Grande do Sul.** 108f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.

- CHAUTEMS, A.; DUTRA, V. F.; FONTANA, A. P.; PEIXOTO, M.; PERRET, M.; ROSSINI, J. Three new species of *Sinningia* (Gesneriaceae) endemic to Espírito Santo, Brazil. **Candollea**, v. 74, n. 1, p. 33-42, 2019.
- CHAUTEMS, A.; PEIXOTO, M.; ROSSINI, J. A new species of *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) from Espírito Santo and Rio de Janeiro states, Brazil. **Candollea**, v. 70, n. 2, p. 231-235, 2015.
- CHAUTEMS, A.; LOPES, T. C. C.; PEIXOTO, M.; ROSSINI, J., *Taxonomic revision of Sinningia* Nees (Gesneriaceae) IV: six new species from Brazil and a long overlooked taxon. **Candollea**, v. 65, n. 2, p. 241-246, 2010.
- CHAUTEMS, A. Gesneriaceae. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM T. S. (Ed.). **Flora fanerogâmica do estado de S. Paulo**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2003, p. 75-104.
- COOKE, R. G.; GHISALBERTI, E. L.; JOHNSON, B. L.; RASTON, C. L.; SKELTON, B. W.; WHITE, A. H.. Absolute configurations of naturally occurring quinone: ventilagone and dunnione. **Australian Journal of Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 925-930, 2006.
- COOKE, R. G.; SOMERS, T. C. Dunnione and related naphthoquinones. Australian Journal of Scientific Research, Serie A: **Physical Sciences**, v. 3, p. 466-479, 1950.
- CORRADINI, E.; FOGLIA, P.; GIANANTI, P.; GUBBIOTTI, R.; SAMPERI, R.; LAGANÁ, A. Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantification in foods and plants. **Natural Product Research**, v. 25, p. 469-495, 2011.
- DAS, L.; BHAUMIK, E.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Role of nutraceuticals in human health. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 2, p. 173-183, 2012.

- DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.
- DUCHOWICZ, P. R.; BENNARDI, D. O.; BACELO, D. E.; BONIFAZI, E. L.; RIOS-LUCI, C.; PADRÓN, J. M.; BURTON, G.; MÍSICO, R. I. QSAR on antiproliferative naphthoquinones based on a conformation-independent approach. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 176-184, 2014.
- ELSHAHAWI, S. I.; SHAABAN, K. A.; KHAREL, M. K.; THORSON, J. S. A. comprehensive review of glycosylated bacterial natural products. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 7591-7697, 2015.
- ENDO, K., HIKINO, H. Structures of rengyol, rengyoxide, and rengyolone, new cyclohexylethane derivatives from *Forsythia sypensa* fruits. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 62, p. 2011-2014, 1984.
- GECHEV, T. S.; HILLE, J.; WOERDENBAG, H. J.; BENINA, M.; MEHTEROV, N.; TONEVA, V.; FERNIE, A. R.; MUELLER-ROEBER, B. Natural products from resurrection plants: potential for medical applications. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 6, p. 1091-1101, 2014.
- GENILLOUD, O.; GONZÁLEZ, I.; SALAZAR, O.; MARTÍN, J.; TORMO, J.R.; VICENTE, F. Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 38, n. 3, p. 375-389, 2011.
- GERWICK, B. C.; SPARKS, T. C. Natural products for pest control: an analysis of their role, value and future. **Pest Management Science**, v. 70, n. 8, p. 1169-1185, 2014.
- GOMES, M. A. N.; SHEPHERD, S. L. K. Estudo da nutrição mineral *in vitro* relacionado à adaptação de *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) às condições do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 2, p. 153-159, 2000.
- GUAY, V.; BRASSARD, P. Synthesis of (±)-7- and 8-hydroxydunnione. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 1, p. 122-125, 1986.

- GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412-429, 2014.
- HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22-24, p. 2831-2846, 2007.
- HASE, T. KAWAMOTO, Y.; OHTANI, K.; KASAI, R.; KAZUO, Y.; PICHEANSOONTHON, C. Cyclohexylethanoids and related glucosides from *Millingtonia hortensis*. **Phytochemistry**, v. 39, n. 1, p. 235-241, 1995.
- HAY, P. J.; WADT, W. R. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations – potentials for K to Au including the outermost core orbitals. **Journal Chemical Physics**, v. 82, p. 299-310, 1985.
- HILL, R. A. Marine natural products. **Annual Reports Section" B"(Organic Chemistry)**, v. 107, n. p. 138-156, 2011.
- HINOSHITA, L. K. R. **Gesneriaceae Rich & Juss. ex DC. no estado do Paraná**. 100f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.
- HOEHNE, F. C. Novidades da família das Gesneriaceae do Brasil. **Sellowia**, v. 9, p. 37-80, 1958.
- HOU, Y.; BRAUN, D. R.; MICHEL, C. R.; KLASSEN, J. L.; ADNANI, N.; WYCHE, T. P.; BUGNI, T. S. Microbial strain prioritization using metabolomics tools for the discovery of natural products. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 10, p. 4277-4283, 2012.
- HUGO, C. J.; HUGO, A. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 12-23, 2015.
- INOUE, K.; UEDA, S.; NAYESHIRO, H.; INOUE, H. Structures of usually prenylated naphthoquinones of *Streptocarpus dunnii* and its cell cultures. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 30, n. 6, p. 2265-2268, 1982.
- INOUE, K.; UEDA, S.; NAYESHIRO, H.; INOUE, H. Quinones of *Streptocarpus dunnii*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 3, p. 737-741, 1983.



- INOUE, K.; UEDA, S.; NAYESHIRO, H.; MORITOME, N.; INOUE, H. Biosynthesis of naphthoquinones and anthraquinones in *Streptocarpus dunnii* cell cultures. **Phytochemistry**, v. 23, n. 2, p. 313-318, 1984.
- ITOIGAWA, M.; ITO, C.; TAN, H. T.-W.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; FURUKAWA, H. Cancer chemopreventive activity of naphthoquinones and their analogs from *Avicennia* plants. **Cancer Letters**, v. 174, p. 135-139, 2001.
- JAMES, S. J. P., Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, (**MOPAC**), 2016.
- JENSEN, S.R. Caffeoil phenylethanoide glycosides in *Sanango racemosum* and in the Gesneriaceae. **Phytochemistry**, v. 43, n. 4, p. 777-783, 1996.
- KHAMBAY, B. P. S.; BATTY, D.; CAHILL, M.; DENHOLM, I. Isolation, characterization, and biological activity of naphthoquinones from *Calceolaria andina* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 770-775, 1999.
- KRAHL, A. H.; KRAHL, D. R. P.; VALSKO, J. J.; HOLANDA, A. S. S.; ENTRINGER-JR, H.; NASCIMENTO, J. W. Biologia reprodutiva e polinização das Gesneriaceae do Brasil: uma revisão de literatura. **Natureza online**, v.12, n.1, p. 45-47, 2014.
- KWIT, M.; ROZWADOWSKA, M. D.; GAWRONSKI, J.; GRAJEWSKA, A. Density functional theory calculations of the optical rotation and electronic circular dichroism: the absolute configuration of the highly flexible trans-isocytozone revised. **Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 21, p. 8051-8063, 2009.
- LOMBA, L. A.; VOGT, P. H.; SOUZA, V. E. P.; LEITE-AVALCA, M. C. G.; VERDAN, M. H.; STEFANELLO, M. E. A.; ZAMPRONIO, A. R. A naphthoquinone from *Sinningia canescens* inhibits inflammation and fever in mice. **Inflammation**, v. 40, n. 3, p. 1051-1061, 2017.
- LOPEZ, L. I. L.; LEYVA, E.; CRUZ, R. F. G. Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 6-17, 2011.

- LOPEZ, J.; CRUZ, F.; ALCARAZ, Y.; DELGADO, F.; VÁSQUEZ, M. A. Quinoid systems in chemistry and pharmacology. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, p. 3599-3620, 2015.
- MARTINS, A.; VIEIRA, H.; GASPAR, H.; SANTOS, S. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: Tips for success. **Marine Drugs**, v. 12, n. 2, p. 1066-1101, 2014.
- MCCHESENEY, J. D.; VENKATARAMAN, S. K.; HENRI, J. T., Plant natural products: Back to the future or into extinction? **Phytochemistry**, v. 68, n. 14, p. 2015-2022, 2007.
- MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal Plants of Brazil**. Algonac: Reference Publications, 2000.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 16, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; KINGSTON, D. G. I., Natural Products as Pharmaceuticals and Sources for Lead Structures. **Wermuth's – The Practice Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 159-186, 2008.
- NOBILI, S.; LIPPI, D.; WITORT, E.; DONNINI, M.; BAUSI, L.; MINI, E.; CAPACCIOLI, S. Natural compounds for cancer treatment and prevention. **Pharmacological Research**, v. 59, n. 6, p. 365-378, 2009.
- PASCOAL, A. C. R. F.; LOURENÇO, C. C.; SODEK, L.; TAMASHIRO, J. Y.; FRANCHI-Jr, G. C.; NOWILL, A. E.; STEFANELLO, M. E. A.; SALVADOR, M. J. Essential Oil from the Leaves of *Campomanesia guaviroba* (DC.) Kiaersk. (Myrtaceae): Chemical Composition, Antioxidant and Cytotoxic Activity. **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n. 5, p. 34-37, 2011.
- PEDERSEN, T. B.; HANSEN, A. E. Ab initio calculation and display of the rotatory strength tensor in the random phase approximation. Method and model studies. **Journal of Chemical Physics Letters**, v. 246, p. 1-8, 1995.
- PENG, J.; SHEN, X.; EL SAYED, K. A.; DUNBAR, D. C.; PERRY, T. L.; WILKINS, S.P.; HAMANN, M. T.; BOBZIN, S.; HUESING, J.; CAMP, R.;

- PRINSEN, M.; KRUPA, D.; WIDEMAN, M. A. Marine natural products as prototype agrochemical agents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2246-2252, 2003.
- PEREZ, A. L.; LAMOUREUX, G.; SÁNCHEZ-KOPPER, A. Efficient syntheses of streptocarpone and (±)-a-dunnione. **Tetrahedron Letters**, v. 48, n. 21, p. 3735-3738, 2007.
  - PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; DE ARAUJO, A. O.; SALAMIN, N. Temporal and spatial origin of Gesneriaceae in the New World inferred from plastid DNA sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 1, p. 61-79, 2013.
  - PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC-FL) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 11, p. 3273-3279, 2003.
  - QUEIROZ, G. S. **Análise de esteróides em extratos vegetais e estudo fitoquímico e biológico preliminar de *Brunfelsia uniflora***. 56f. Trabalho de Graduação (Bacharelado em Química) – Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
  - RANA, A.; BHANGALIA, S.; SINGH, H. P. A new phenylethanoid glucoside from *Jacaranda mimosifolia*. **Natural Product Research**, v. 27, n. 13, p.1167-1173, 2013.
  - REITZ, R. Os nomes populares das plantas de Santa Catarina. **Sellowia**, Itajaí, v. 11, n. 11, p. 9-148, 1959.
  - REFULIO-RODRIGUEZ, N. F.; OLMSTEAD, R. G. Phylogeny of Lamiidae. **American Journal of Botany**, v. 101, n. 2, p. 287-299, 2014.
  - RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T. Analytical separation and detection methods for flavonoids. **Journal of Chromatography**, v. 1112, p. 31-63, 2006.
  - RIOS, J. I.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 80-84, 2005.

- RIVA, D.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A.; POLIQUESI, C. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E. C.; SALVADOR, M. J. Estudo químico de *Sinningia allagophylla* guiado por testes de atividade antiproliferativa. **Quimica Nova**, v. 35, n. 5, p. 974-977, 2012.
- SALVADOR, M. J.; FERREIRA, E.O.; MERTENS-TALCOTT, S.U.; CASTRO, W.V.; BUTTERWECK, V.; DERENDORF, H. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella*. **Zeitschrift fur Naturforschung C**, v. 61, n. (1-2), p. 19-25, 2006.
- SALVADOR, M. J.; FERREIRA, E. O.; PRAL, E. M. F.; ALFIERI, S. C.; ALBUQUERQUE, S.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. Bioactivity of crude extracts and some constituents of *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae). **Phytomedicine**, v.9, n. 6, p. 566-571, 2002.
- SCHARF, D. R.; VERDAN, M. H.; RIBEIRO, M. A.; SIMIONATTO, E. L.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Naphthochromenes and related constituents from the tubers of *Sinningia allagophylla*. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. p. 4, 792-798, 2016.
- SHERIDAN, H.; NESTOR, C.; O'DRISCOLL, L.; HOOK, I. Isolation, structure elucidation, and cytotoxic evaluation of furano naphthoquinones from in vitro plantlets and cultures of *Streptocarpus dunnii*. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 1, p. 82-85, 2011.
- SIDDIQUI, B. S.; AHMAD, F.; SATTAR, F. A.; BEGUM, S. Chemical constituents from the aerial parts of *Lippia nodiflora*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 30, n. 12, p. 1507-1510, 2007.
- SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; McMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BOKESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R., New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, n. 13, p. 1107-1112, 1990.
- SOUZA, G. V.; SIMAS, A. S.; BASTOS-PEREIRA, A. L.; FROIS, G. R. A.; RIBAS, J. L. C.; VERDAN, M. H.; KASSUYA, C. A. L.; STEFANELLO, M. E. A.; ZAMPRONIO, A. R. Antinociceptive activity of the ethanolic extract, fractions

- and aggregatin D isolated from *Sinningia aggregata* tubers. **Plos One**, v. 10, n. 2, e0117501/1- e0117501/22, 2015.
- STOJKOVIĆ, D.; REIS, F. S.; GLAMOČLIJA, J.; ĆIRIĆ, A.; BARROS, L.; VAN GRIENSVEN, L. J. L. D.; FERREIRA, I. C. F. R.; SOKOVIĆ, M. Cultivated strains of *Agaricus bisporus* and *A. brasiliensis*: chemical characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties for the final healthy product–natural preservatives in yoghurt. **Food & Function**, v. 5, n. 7, p. 1602-1612, 2014.
  - STRAPASSON, R. L. B.; HERNANDEZ-TASCO, A. J.; SALVADOR, M. J.; STEFANELLO, M. É. A. Antioxidant activity and HPLC-DAD profile of *Moquiniastrium polymorphum* subsp. *floccosum* (Asteraceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 36, n. 1, p. 200-204, 2017.
  - STROHL, W. R., The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 2, p. 39-41, 2000.
  - TUNTIWACHWUTTIKUL, P.; RAYANIL, K.; TAYLOR, W. C. Chemical constituents from the flowers of *Nyctanthes arbor-tristis*. **Science Asia**, v. 20, p. 21-30, 2003.
  - UNEMOTO, K. L.; FARIA, R. T.; MENEGUECE, B.; ASSIS, A. M. Estabelecimento de um protocolo para a propagação in vitro de rainha-do-abismo, *Sinningia leucotricha* (Hoehne) Moore (Gesneriaceae). **Acta Scientiarum Agronomy** (Maringá), v. 28, p. 503-506, 2006.
  - VAISHNAV, P.; DEMAINE, A. L. Unexpected applications of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 2, p. 223–229, 2010.
  - VERDAN, M. H.; SCHARF, D. R.; BARISON, A.; SALVADOR, M. J.; STEFANELLO, M. E. A. Further chemical constituents from *Sinningia canescens* and *S. leucotricha* (Gesneriaceae). **Phytochemistry Letters**, v. 22, p. 205-209, 2017.
  - VERDAN, M. H.; SOUZA, L. M.; CARVALHO, J. E.; COSTA, D. B. V.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Two new hydro naphthoquinones from *Sinningia aggregata* (Gesneriaceae) and cytotoxic

- activity of aggregatin D. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, n. 1, p. 148-152, 2015a.
- VERDAN, M. H.; KOOLEN, H. H. F.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. A new naphthoquinone from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). **Natural Product Communications**, v. 10, n. 4, p. 625-626, 2015b.
  - VERDAN, M. H.; EHRENFRIED, C. A.; SCHARF, D. R.; CERVI, A. C.; SALVADOR, M. J.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Chemical constituents from *Sinningia canescens* and *S. warmingii*. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 10, p. 1535-1537, 2014.
  - VERDAN, M. H.; UNEMOTO, L. K.; FARIA, R. T.; SALVADOR, M. J.; SÁ, E. L.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Leucotrichoic acid, a novel sesquiterpene from *Sinningia leucotricha* (Gesneriaceae). *Tetrahedron Letters*, v. 54, n. 35, p. 4735-4737, 2013.
  - VERDAN, M. H.; STEFANELLO, M. E. A. Secondary metabolites and biological properties of Gesneriaceae species. **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, n. 12, p. 2701-2731, 2012.
  - VERDAN, M. H.; BARISON, A.; SÁ, E. L.; SALVADOR, M. J.; POLIQUESI, C. B.; EBERLIN, M. N.; STEFANELLO, M. E. A. Lactones and quinones from the tubers of *Sinningia aggregata*. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 8, p. 1434-1437, 2010.
  - VERDAN, M. H.; CERVI, A. C.; CAMPOS, F. R.; BARISON, A.; STEFANELLO, M. E. A. Anthraquinones and ethylcyclohexane derivatives from *Sinningia speciosa* "Fyfiana". **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, n. 1, p. 40-42, 2009.
  - WEBER, A. Gesneriaceae. In: Kubitzki K (ed). **The families and genera of vascular plants. Dicotyledons, Lamiales (except Acanthaceae incl. Avicenniaceae)**. Berlin: Springer, 2004.
  - WEIDNER, C.; DE GROOT, J. C.; PRASAD, A.; FREIWALD, A.; QUEDENAU, C.; KLIEM, M.; WITZKE, A.; KODELJA, V.; HAN, C.-T.; GIEGOLD, S.; BAUMANN, M.; KLEBL, B.; SIEMS, K.; MÜLLER-KUHRT, L.; SCHÜRMANN,

- A.; SCHÜLER, R.; PFEIFFER, A. F. H.; SCHROEDER, F. C.; BÜSSOW, K.; SAUER, S. Amorphutins are potent antidiabetic dietary natural products. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 19, p. 7257-7262, 2012.
- WIEHLER, H. Medicinal Gesneriads. 122 species of the Rain Forest plant family Gesneriaceae used medicinally in the neotropics. **Gesneriana**, v. 1, p. 98-120, 1995.
  - WIEMANN, P.; KELLER, N. P. Strategies for mining fungal natural products. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 41, n. 2, p. 301-313, 2014.
  - WINEFIELD, C. S.; LEWIS, D. H.; SWINNY, E. E.; ZHANG, H.; ARATHOON, H. S.; FISCHER, T. C.; HALBWIRTH, H.; STICH, K.; GOSCH, C.; FORKMANN, G.; DAVIES, K. M. Investigation of the biosynthesis of 3-deoxyanthocyanins on *Sinningia cardinalis*. **Physiology Plantarum**, v. 124, p. 419-430, 2005.
  - WINIEWSKI, V.; VERDAN, M. H.; RIBEIRO, M. A.; HERNANDEZ-TASCO, A. J.; SALVADOR, M. J.; STEFANELLO, M. E. A. Warmingiins A and B, two new dimeric naphthoquinone derivatives from *Sinningia warmingii* (Gesneriaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 4, p. 598-602, 2017.
  - WRIGHT, D. A.; MITCHELMORE, C. L.; DAWSON, R.; CUTLER, H. G. The influence of water quality on the toxicity and degradation of juglone (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone). **Environmental Technology**, v. 28, n. 10, p. 1091-1101, 2007a.
  - WRIGHT, D. A.; DAWSON, R.; CUTLER, S. J.; CUTLER, H. G.; ORANO-DAWSON, C. E.; GRANIELI, E. Naphthoquinones as broad spectrum biocides for treatment of ship's ballast water: Toxicity to phytoplankton and bacteria. **Water Research**, v. 41, n. 6, p. 1294-1302, 2007b.
  - XIAO, X.; LIN, Y.; XU, G.; GONG, X.; GU, Y.; TONG, J.; YANG, J. Two new cytotoxic naphthoquinones from *Didymocarpus hedyotideus*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 94, n. 3, p. 404-409, 2011.

- XU, R.-L.; WANG, R.; HA, W.; SHI, Y.-P. New cyclohexylethanoids from the leaves of *Clerodendrum trichotomum*. **Phytochemistry Letters**, v. 7, p. 111-113, 2014.
- YANG, W. A kind of chinese medicine composition for the treatment of chronic pancreatitis and its preparation method and application. **China patent application** CN 2014-10564326. 2014.
- YUNES, R. A.; CEQUINEL-FILHO, V. **Química dos Produtos Naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Itajaí: Editora Univale, 2016.
- ZAITLIN, D. Intraspecific diversity in *Sinningia speciosa* (Gesneriaceae: Sinningieae), and possible origins of the cultivated florist's gloxinia. **AoB Plants**, 2012, pls039, doi: 10.1093/aobpla/pls039.
- ZHONG, Y. J.; WEN, Q. F.; LI, C. Y.; SU, X. H.; YUAN, Z. P.; LI, Y. F. Two new naphthoquinone derivatives from *Lysionotus pauciflorus*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 96, n. 9, p. 1750-1756, 2013.